

**Kondensation
des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins
mit Aldosen**

Hans Josef Schramm

1961

Kondensation des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins

mit Aldosen.



Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Ludwigs-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von

Hans Josef Schramm

aus

Oettingen / Bayern

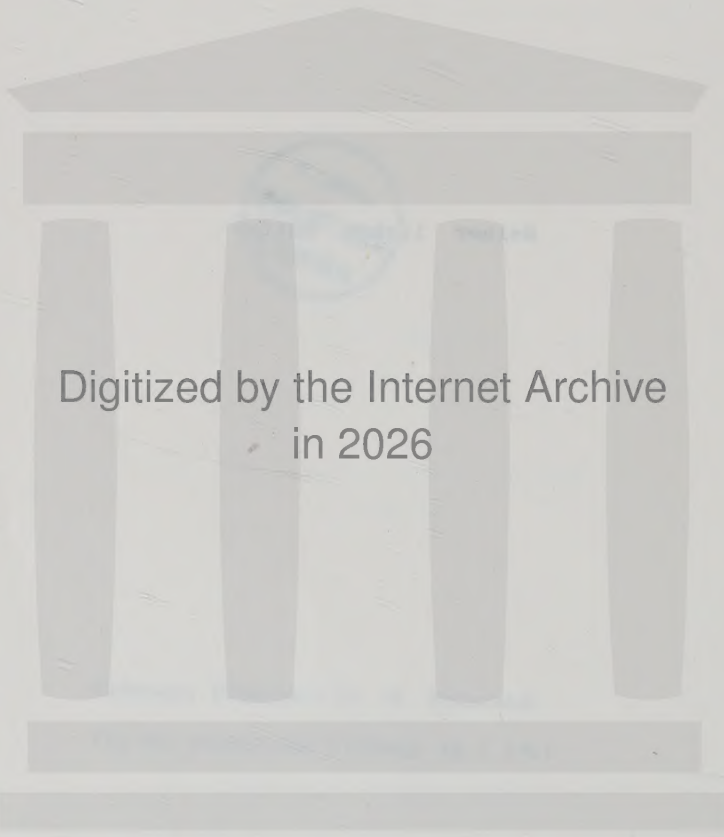
1961



Referent: Professor Dr. A. Butenandt

Tag der mündlichen Prüfung: 26. 7. 1961

Meiner lieben Mutter



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555620_0053

Die vorliegende Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Professor Dr. A. Butenandt in der Zeit vom September 1958 bis Dezember 1960 am Max-Planck-Institut für Biochemie, München, ausgeführt.

Herrn Professor Dr. A. Butenandt danke ich sehr herzlich für die vielseitige Förderung der Arbeit.

Herrn Dr. H. Rembold danke ich für die stetige Hilfe.

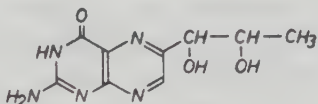
Fräulein G. Schild und Fräulein I. Köhler danke ich für die Aufnahme der Ultraviolett- und Infrarot-Spektren.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
I. Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit Zuckern	
a) Reaktivität des Pyrimidins	6
b) Kondensation	7
c) Nitrosierbare Produkte	8
d) Versuche der Amadori-Umlagerung	10
e) Spektren	11
f) Nitrosierungen	13
II. C-Alkylierung	
a) Nicht nitrosierbares Produkt der Kondensation	14
b) Spektren und Konstitution	15
c) Weitere C-Alkylierungsprodukte des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins	22
III. Kondensation weiterer Pyrimidine	
a) Kondensationen mit D-Glucose	25
b) Kondensationen mit D-Ribose	28
IV. Reaktion zwischen 4-Chlor-2-amino-6-hydroxy-pyrimidin und Aminosukcern	29
Zusammenfassung	34
Experimenteller Teil	36
Literaturverzeichnis	59

E i n l e i t u n g

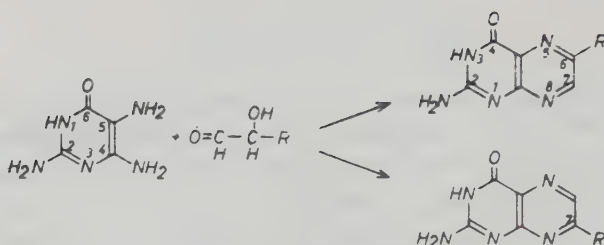
Am Max-Planck-Institut für Biochemie wurde 1957 von A. Butenandt und H. Rembold (1,2) im Weiselzellenfuttersaft der Honigbiene ein Pteridin entdeckt, das sich mit dem im Harn gefundenen "Biopterin" von E.L. Patterson und Mitarbeitern (3,4,5) als identisch erwies. Das gleiche Pteridin haben H.S. Forrest und K.H. Mitchell (6), sowie M. Viscontini und Mitarbeiter (7,8,9,10,11) auch aus *Drosophila melanogaster* isoliert. Es hat die Struktur eines 2-Amino-4-hydroxy-6-(L-erythro-1,2-dihydroxypropyl)-pteridins:



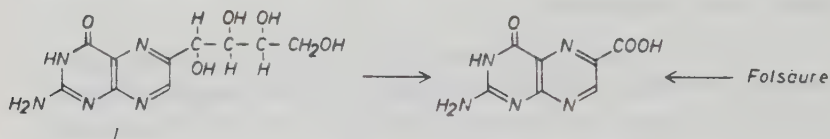
Der Stoffwechsel dieser interessanten Verbindung wurde vor kurzem von H. Rembold und G. Hanser (12) bei der Honigbiene näher untersucht.

Im Rahmen dieser Untersuchungen tauchte die Frage nach ähnlich gebauten 2-Amino-4-hydroxy-polyhydroxyalkyl-pteridinen auf, besonders nach solchen, die, wie das Biopterin, die Seitenkette an der Stelle 6 tragen.

Die Synthese solcher Polyhydroxylalkyl-pteridine, wie sie 1947 von P. Karrer (13,14,15) und unabhängig davon durch H.G. Petering (16,17) erstmals ausgeführt wurde, besteht in der Kondensation eines o-Diamino-pyrimidins, des 2,4,5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidins, mit einem Zucker. Es ist der große Nachteil dieser Pteridinsynthese, daß dabei zwei isomere Formen entstehen:



Im Gegensatz dazu erhielt Forrest (18,19,20) bei der Kondensation von 2,4,5-Triamino-6-hydroxy-pyrimidin mit Glukose oder Fruktose in Gegenwart von Hydrazin fast nur eines der beiden Isomeren. Er hatte sich bei dieser Kondensation an die Bedingungen von H. Ohle (21) gehalten, der unter Zusatz von Hydrazin o-Phenylendiamin und Aldosen zu Chinoxalin-derivaten kondensiert hatte. Forrest identifizierte die von ihm gewonnenen Tetrahydroxybutyl-pteridine in Bezug auf die Stellung der Seitenkette durch Abbau zur Carbonsäure, die er mit authentischem Material verglich:



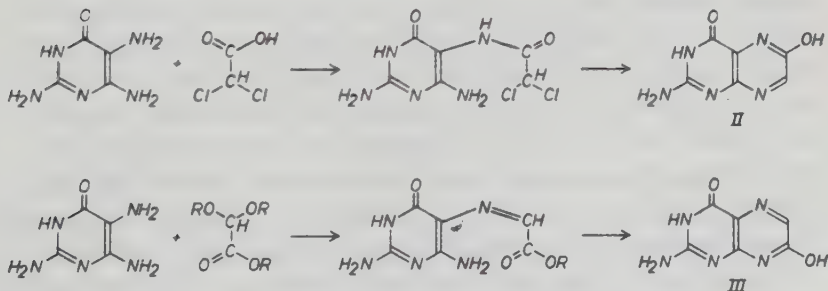
Er zeigte so, daß mit Glukose und Fruktose dasselbe 2-Amino-4-hydroxy-6-(D-arabo-tetrahydroxybutyl)-pteridin (I) entsteht.

F. Weygand (22) und G. Henseke (23) erhielten ebenfalls 2-Amino-4-hydroxy-tetrahydroxybutyl-pteridine, als sie anstelle der freien Zucker unter ähnlichen Bedingungen 1-Desoxy-1-p-toluidino-2-ketosen (Derivate der Amadori-Umlagerung) einsetzten. Diese werden als Ketose-Derivate durch Hydrazin besonders leicht dehydriert. Wie bei der Methode von Forrest bildet sich auch hier in erster Stufe ein Oson-

Derivat, das mit dem Pyrimidin reagiert.

Außer der erwähnten Darstellung mit Glukose und Fruktose gibt es keine Synthese von 6-Polyhydroxyalkyl-pteridinen, bei der eine Isomerentrennung vermieden werden konnte. Auch das Verfahren von Weygand kommt ohne Isomerentrennung im allgemeinen nicht aus. Bei nahezu allen Synthesen von Polyhydroxyalkyl-pteridinen wurden in der letzten Zeit die freien Zucker eingesetzt und die Isomerentrennung durch Säulenchromatographie in Kauf genommen (5,10,24). Die Frage nach einer eindeutigen Synthese von 2-Amino-4-hydroxy-polyhydroxyalkyl-pteridinen ist also noch offen. Sie ist für die Pteridinchemie von großer Bedeutung.

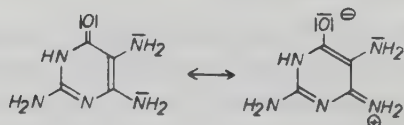
Es sind zwei eindeutige Synthesen von einfachen 2-Amino-4-hydroxy-pteridinen veröffentlicht worden, nämlich die des Xanthopterins von R. Purrmann (25) (II) und die Darstellung des Isoxanthopterins (III) von Purrmann (26) und W. Pfeleiderer (27):



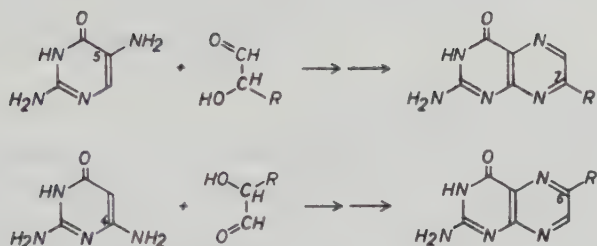
Im ersten Schritt wird bei diesen Synthesen eine Verknüpfung zwischen der 5-Aminogruppe des Pyrimidins und einer geeigneten funktionellen Gruppe des Reaktionspartners hergestellt. Dieses Zwischenprodukt wird isoliert und gereinigt. Der Ringschluß zum Pteridin erfolgt erst bei der weiteren Umsetzung. Die Isomerentrennung erfolgt durch Reinigung der

Zwischenstufe; das ist wesentlich leichter als eine Isomerenentrennung auf der Pteridinstufe.

Diese Synthese nützen die Tatsache aus, daß die 5-Aminogruppe der Pyrimidine basischer als die 4-Aminogruppe ist und deshalb vor dieser reagiert. Schon verschiedene Autoren haben auf diese verringerte Basizität der 4-Aminogruppe hingewiesen (O. Isay (28), P.A. Levene (29), W. Traube (30), H. Bredereck (31) und W. Pfeleiderer (32)). Diese Autoren führen die geringere Basizität der 4-Aminogruppe auf die Konjugation mit der Keto-Gruppierung in Stellung 6 zurück, die eine vinyloge Säureamid-mesomerie ermöglicht:



Will man sich nicht auf den Basizitätsunterschied der beiden Aminogruppen verlassen und das Entstehen von Isomeren sicher ausschliessen, so müßte man von einem Pyrimidin ausgehen, das nur noch eine kondensationsbereite Aminogruppe trägt. Nach der Kondensation müßte dann eine weitere Aminogruppe eingeführt und der Pyrazinring geschlossen werden. Auf diesem Weg sollte eine "gerichtete" Synthese von Polyhydroxyalkyl-pteridinen durch Kondensation eines Diaminohydroxy-pyrimidins mit einer Aldose und durch anschliessende Einführung der dritten Aminogruppe möglich sein. Um 2-Amino-4-hydroxy-7-polyhydroxyalkyl-pteridine zu erhalten, müßte man im ersten Schritt 2,5-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit Aldosen kondensieren, für die Synthese der besonders wichtigen 6-Isomeren jedoch vom 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin ausgehen:



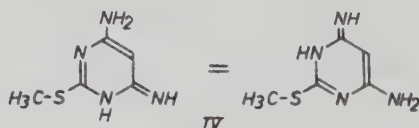
Auf Grund dieser Überlegungen wurde in der vorliegenden Arbeit die Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit Aldosen untersucht.

I. Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy- pyrimidin mit Zuckern

a) Reaktivität des Pyrimidins

Im Jahre 1914 hat S.J. Thannhauser (33) als erster 4,5-Diamino-pyrimidine mit Aldosen kondensiert. Bei der Reaktion von 4,5-Diamino-uracil mit Glukose entstand die 5-Glukosylamino-Verbindung, die Aminogruppe in Stellung 4 reagierte nicht.

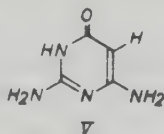
Im Rahmen seiner Synthesen von Purin-nukleosiden versuchte A.R. Todd (34) 1943, 4-Glykosylamino-pyrimidine herzustellen. Nach vielen vergeblichen Versuchen, unter anderem mit Acetobromglukose, gelang es ihm, 4,6-Diamino-2-methylthio-pyrimidin (IV) mit Aldosen zu kondensieren. Er führte das Gelingen darauf zurück, daß stets eine der Aminogruppen das Verhalten einer wahren Aminogruppe zeigt:



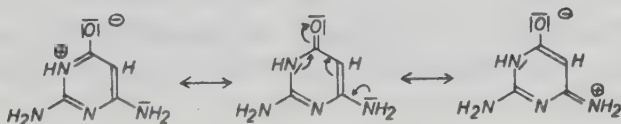
Bei Pyrimidinen dagegen, die, wie das 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin, in Stellung 2 einen "prototropen" Substituenten (-OH, -NH₂, -SH) besitzen, der unter Abgabe eines Protons in eine andere Form übergehen kann (=O, =NH, =S), sollte nach seinen Überlegungen die 4-Aminogruppe in der Iminoform vorliegen und damit nicht reaktiv sein. Dieser Auffassung kann aber aus folgenden Gründen nicht uneingeschränkt beige pflichtet werden:

Bei Heterocyclen, besonders aber bei Pyrimidinen und Pteridinen, liegen Hydroxylgruppen in Nachbarschaft eines Kernstickstoffatoms nicht in der Laktim-, sondern in der Laktamform vor, wie es z.B. beim Uracil und Leukopterin nachgewie-

sen ist (35,36). Aminogruppen liegen aber stets als solche und nicht in der Iminoform vor. Man darf also annehmen, daß die Formel V der beste Ausdruck für die Struktur des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins ist:



In diesem Falle kann aber die 2-Aminogruppe die 4-Aminogruppe nicht beeinflussen; es kann auch keine Amidinmesomerie zwischen dem Stickstoffatom 3 und der 4-Aminogruppe auftreten. Lediglich die Elektronen anziehende Ketogruppe in Stellung 6 kann die Basizität der 4-Aminogruppe erniedrigen, indem sie zu dieser in die Beziehung einer vinylogenen Säureamidmesomerie tritt. Sehr stark kann aber dieser Elektronensog nicht sein, da die Ketogruppe auch Gelegenheit zu einer konkurrierenden Beziehung einer Säureamidmesomerie mit dem 1-Stickstoffatom hat:



Die Basizität der 4-Aminogruppe sollte demnach zwar erniedrigt sein, ob sie aber für eine Kondensation mit Aldosen nicht mehr ausreicht, konnte nur das Experiment entscheiden.

b) Kondensation

Die Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit Glukose wurde in kleinen Ansätzen unter verschiedenen Bedingungen untersucht. Als Lösungsmittel dienten Äthanol, Wasser und Gemische davon, als Katalysatoren Essigsäure, Salzsäure oder Ammoniumchlorid. Der Verlauf der Reaktion wurde papierchromatographisch verfolgt: Das 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyri-

midin und alle pyrimidinhaltigen Reaktionsprodukte absorbieren das UV-Licht stark, so daß die Papierchromatogramme und damit die Reaktionsansätze rasch geprüft werden können.

Eine zweite Nachweisreaktion, die sich besonders gut bewährte, beruht auf der sehr leicht verlaufenden Nitrosierung der Pyrimidine auf den Papierchromatogrammen. Für diese Methode wird das getrocknete Chromatogramm zuerst in verdünnter Natriumnitritlösung und anschließend in verdünnter Essigsäure gebadet. Die 5-Nitroso-Verbindungen der Pyrimidine erscheinen dann als hellrote Flecken. Diese Nachweisreaktion ist für die Pyrimidinchemie von einigem Interesse, da sehr viele 4-Amino-pyrimidine farbige Nitroverbindungen liefern. Der Nachweis ist empfindlich; im Falle des 2,4-Diamino-6-hydroxypyrimidins können etwa 10 μ g Substanz nachgewiesen werden.

Die günstigsten Bedingungen für die Kondensation des Pyrimidinderivates mit Glukose wurden durch Vergleich der Papierchromatogramme gefunden. Papierchromatogramme solcher Ansätze zeigten stets außer dem Ausgangsmaterial zwei im UV-Licht absorbierende Flecken. Schon auf dem Papierchromatogramm konnte man erkennen, daß der in wässrigen Pufferlösungen (z.B. 4%iger Natriumzitratlösung) am weitesten wandernde Fleck nicht nitrosierbar ist. Die Reinigung und die Trennung der beiden Komponenten durch Umfällen bzw. fraktioniertes Lösen ist sehr mühselig.

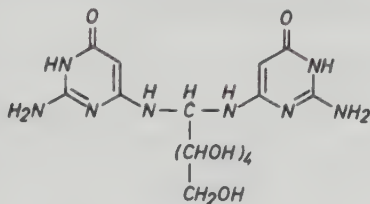
Die beiden im Papierchromatogramm erkannten Substanzen wurden als nitrosierbares weißes Pulver, entsprechend dem gesuchten N-Derivat, und als farblose Nadeln, entsprechend einem unerwarteten, nicht nitrosierbaren Produkt, erhalten.

c) Nitrosierbare Produkte

Das nitrosierbare Hauptprodukt der Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit D-Glukose wurde durch vielfaches Umfällen mit Aceton aus wässriger Lösung papierchromatographisch einheitlich, aber nicht kristallin erhalten. Die Verbindung hat den R_f -Wert 0,42 in 4%iger Natriumzitratlösung

(System C), den es beim Rechromatographieren behält. Der Zersetzungspunkt liegt bei 160° . Sowohl die Nitrosierung, als auch das Kuppeln mit diazotiertem p-Nitranilin nach den Bedingungen von Todd (37) oder mit p-Nitranilin-anti-diazotat (38) im pH-Bereich von 5 - 7 bei 0° liefern stets das entsprechende Derivat des zuckerfreien Pyrimidins. Wegen der nicht vollständigen Reinheit gibt die Elementaranalyse nur ungenaue Auskunft über die Struktur des Produktes.

Mit D-Galaktose als Zuckeranteil geht die Kondensation ähnlich vonstatten. Es entstehen aber mindestens zwei nitrosierbare Verbindungen ($R_f = 0,41$ und $0,50$ im System C) und überhaupt kein nicht nitrosierbares Produkt. Eines der Produkte konnte durch mehrmaliges Umkristallisieren aus Wasser in Form farbloser Kristalle erhalten werden. Der R_f -Wert im System C ist $0,41$, der Zersetzungspunkt $228 - 230^{\circ}$. Alle Versuche mißlangen, die Verbindung katalytisch zu hydrieren. Bei der Hydrolyse des Produktes mit $0,1$ n Schwefelsäure konnten sowohl 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin, als auch der Zucker papierchromatographisch als Spaltprodukte nachgewiesen werden. Die Analysenwerte stimmen ausgezeichnet auf eine Verbindung aus zwei Mol Pyrimidin mit einem Mol Galaktose, so daß man die Struktur eines Galaktose-N-acetals denken kann:

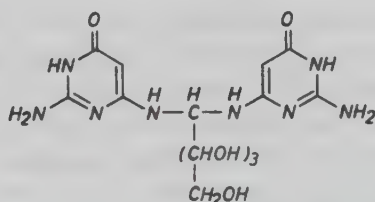


Das zweite nitrosierbare Produkt der Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit Galaktose konnte nicht rein dargestellt werden.

Ob auch bei dem Glukose-Kondensationsprodukt (trotz der abweichenden Analysenwerte) ein solches Acetal vorliegt, kann nicht mit Sicherheit entschieden werden. Die nahezu gleichen

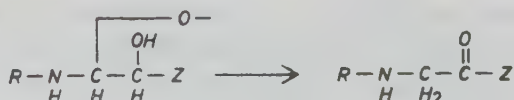
R_f -Werte sprechen für die gleiche Struktur.

Ähnlich verläuft die Kondensation zwischen 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin und Ribose. Es entstehen Produkte mit den R_f -Werten 0,46 und 0,62 (System C). Beide sind nitrosierbar. Die Verbindung mit dem niedrigeren R_f -Wert konnte nach oftmaligem Umfällen mit Aceton aus Wasser umkristallisiert werden. Die Analysenwerte stimmen jedoch nur ungenau auf das Acetal:

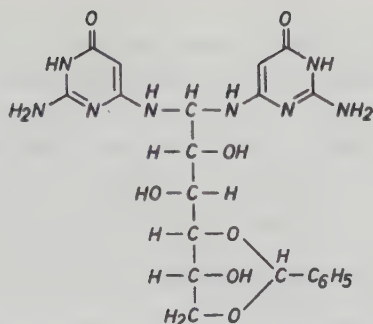


d) Versuch der Amadori-Umlagerung

Da die N - C-Bindung zwischen Kohlenhydrat und Pyrimidin in den aufgeführten Verbindungen im Sauren nicht stabil war und die Nitrosierung nicht überstand, wurde nach der Möglichkeit einer festeren Bindung der Zucker gesucht. Diese ist, außer in den N-Derivaten der Glykamine, in den Amadori-Umlagerungsprodukten gegeben. Bei der Amadori-Umlagerung gehen N-Glykoside in 1-Amino-1-desoxy-ketosen über:



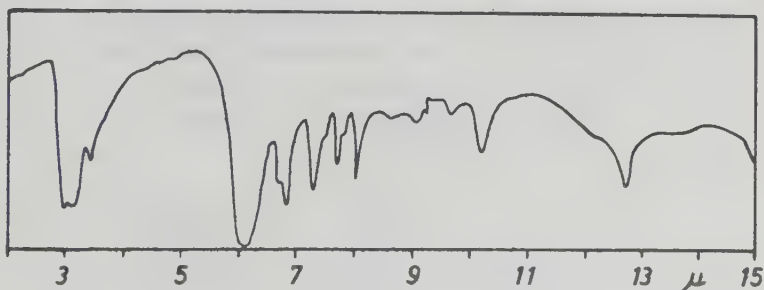
Besonders leicht verläuft die Reaktion, wenn an Stelle der Glukose die 4,6-Benzal-glukose verwendet wird (39). Es wurde daher 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit 4,6-Benzal-glukose umgesetzt. Die dabei entstehende Verbindung stellt das N-acetal der 4,6-Benzalglukose dar:



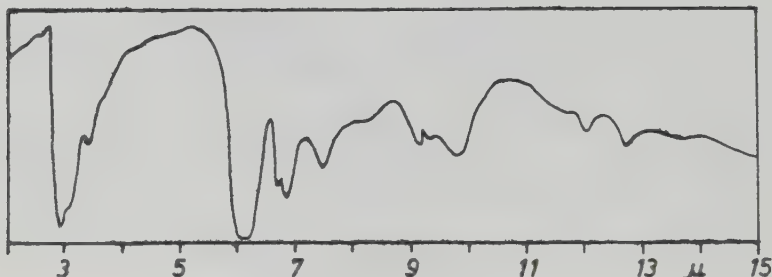
Eine Amadori-Umlagerung trat unter den Reaktionsbedingungen nicht ein (keine Reduktion von Tillmanns-Reagenz). Dieser Befund bestätigt die von H. S. Isbel (40) aus dem Mechanismus der Umlagerung abgeleitete Forderung, daß mit zu wenig basischen Aminen die Umlagerung nicht durchführbar sein soll.

e) Spektren

Die Infrarot-Spektren der Pyrimidin-Zucker-Verbindungen unterscheiden sich vom IR-Spektrum des 2,4-Diamino-6-hydroxypyrimidins durch zusätzliche C-O-Valenzschwingungen im Bereich von 9 - 10 μ . Diese Banden verschwinden, wenn bei der Nitrosierung die Kohlenhydratkomponente abgespalten wird:

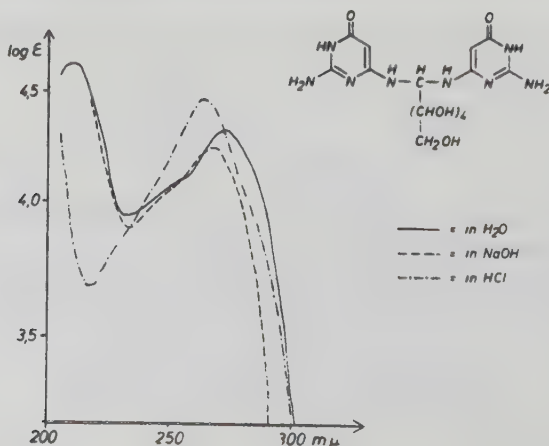


2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin



Galaktose-N-acetal

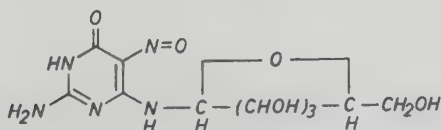
Die Ultraviolett-Spektren der Pyrimidine zeigen im allgemeinen zwei Banden: eine langwelligere bei 260 - 280 $m\mu$ und eine oft nicht mehr ganz registrierbare Bande bei 210 $m\mu$. Zwischen diesen beiden zeigt sich bei 2-Amino-pyrimidin noch eine dritte bei 240 $m\mu$ (41). Auch 5-alkylierte und vor allem 5-acylierte Pyrimidine zeigen dieses dritte Maximum (42). Eine Ausnahme unter den 2-Amino-pyrimidinen bildet das 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin, das nur zwei Banden bei 212 und 268 $m\mu$ besitzt. Bei N-acylierten 4-Amino-6-hydroxy-pyrimidinen tritt eine charakteristische Rotverschiebung der Banden ein (43,44).



f) Nitrosierungen

Die Nitrosierung der Kondensationsprodukte zwischen 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin und Glukose, Ribose, Galaktose und 4,6-Benzal-glukose zerfallen fast vollständig bei der Nitrosierung unter Bildung der freien Zucker und des 5-Nitroso-2,4-diamino-6-hydroxy-pyrimidins. Auch die Kupplung mit Diazonium-Verbindungen führt zu keinen kohlenhydrathaltigen Verbindungen. Da die Mutterlauge der Nitrosierung in manchen Fällen noch schwach rosa gefärbt war, wurde versucht, diese löslichen Produkte zu isolieren. Dies gelingt am besten, wenn man kurz nach Ansäuern der wässrigen Lösung von Pyrimidin und Natriumnitrit rasch mit Natronlauge alkalisch macht und vom Basischen her neutralisiert. So wird das Gleichgewicht Entstehung / Zerfall des labilen Nitroso-pyrimidins eingefroren. Das Nitroso-glykosid wurde, ausgehend vom Galaktose-pyrimidin, in Substanz gefaßt. Die Reinigung durch Säulenchromatographie an Cellulose und an Ekteola-cellulose war allerdings mühsam und die Ausbeute gering; auch waren die Endprodukte nicht vollständig rein.

Bei der Aufarbeitung zeigte sich eine interessante Umlagerung: Aus der zunächst roten Verbindung entstand bei der Chromatographie an Cellulose teilweise eine blaue, die mit einem anderen Retentionsvolumen wanderte, so daß die Chromatographie durch die ständige Umwandlung nicht sehr wirksam verlief. Es waren also zum Schluß zwei Nitrosoverbindungen vorhanden, deren Analysen die Struktur des 5-Nitroso-2-amino-4-D-galaktosyl-amino-6-hydroxy-pyrimidins stützen:



Bei der Nitrosierung des Galaktose-N-acetals wird also die Acetalbindung gespalten unter Bildung von je 1 Mol freiem

5-Nitroso-pyrimidin und 1 Mol 5-Nitroso-4-galaktosyl-amino-pyrimidin.

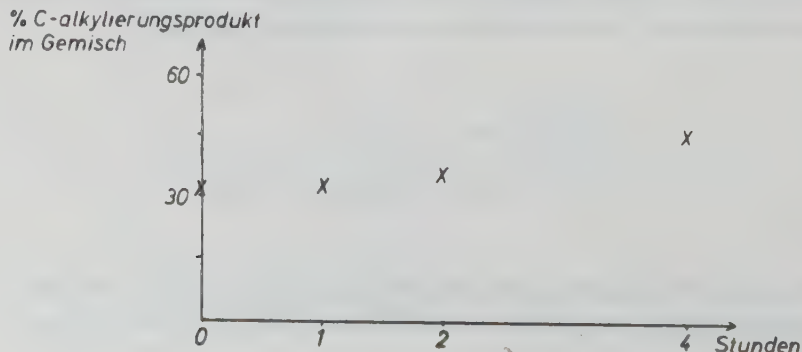
Die Nitrosoverbindungen ließen sich bequem mit Dithionit reduzieren. Wenn man die Lösung eines reduzierten Nitroso-pyrimidins mit Diacetyl umsetzte, entstanden zwei blau fluoreszierende Pteridine. Die Isolierung des einen gelang zwar (UV-Maxima: 210, 274, 345 - 350 m μ), aber die Substanzmenge war so gering, daß keine weiteren Informationen erhalten werden konnten.

Es wurde also kein präparativ verwertbarer Weg gefunden, über die Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit Aldosen und anschließender Nitrosierung zu einer gerichteten Pteridinsynthese zu gelangen.

II. C - Alkylierung

a) Das nicht nitrosierbare Produkt der Kondensation

Bei der Kondensation des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins mit Glukose tritt, wie schon erwähnt, auch eine zweite, nicht nitrosierbare Verbindung auf. Wenn man das rohe Kondensationsprodukt einige Zeit in Wasser/Alkohol erhitzt, kann man durch quantitative UV-Absorptionsmessungen an den Papierchromatogrammen eine Verschiebung im Mengenverhältnis der beiden Substanzen beobachten, wobei das nicht nitrosierbare Produkt zunimmt:



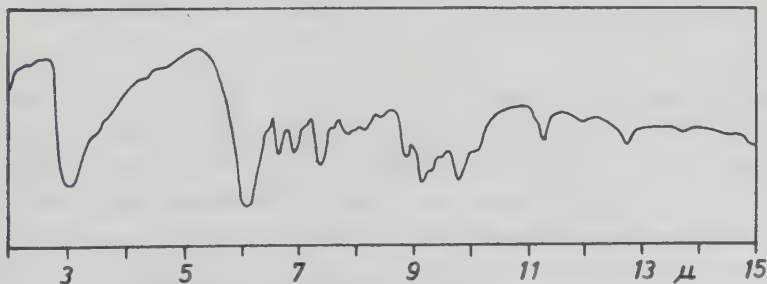
Es erfolgt also eine Umlagerung. Erhitzt man das Gemisch länger als 4 Stunden, so treten noch andere unbekannte Flecken im Papierchromatogramm auf.

Sogar beim Stehen bei Zimmertemperatur tritt eine Umlagerung auf, denn das Verhältnis verschob sich bei einer Probe, die in festem Zustand zwei Tage aufbewahrt wurde, von 31,2 auf 36,6 % an nicht nitrosierbarem Produkt.

Man konnte der Umlagerungsreaktion entnehmen, daß das nicht nitrosierbare Produkt das stabilere ist. Zu seiner Darstellung sollten also schärfere Bedingungen führen, nämlich solche, unter denen das instabile N-acetal nicht entstehen kann, bzw. umgelagert wird: Bei einem Ansatz, dem 20 ccm Eisessig pro Mol Pyrimidin zugesetzt worden war, entstand das gewünschte Produkt in sehr guter Ausbeute in farblosen Kristallen.

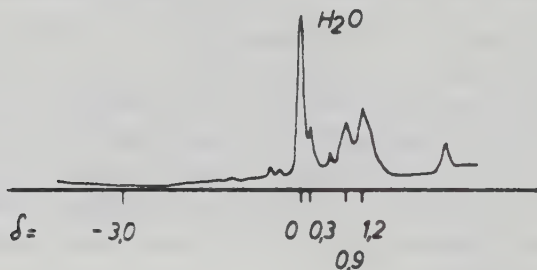
b) Spektren und Konstitution

Das kristalline Umlagerungsprodukt zeigt im Infrarot-Spektrum die für Pyrimidin und Kohlenhydrate typischen Banden; es ist also eine Pyrimidin-glukose-Verbindung:

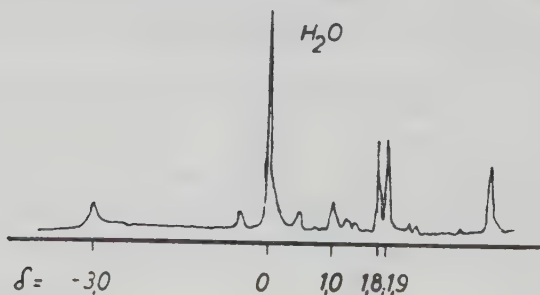


Im Gegensatz zum nitrosierbaren Produkt muß die Glukose hier mit einer anderen Stelle des Pyrimidins verknüpft sein. In Frage kommt dafür vor allem das Kohlenstoffatom 5. Den Beweis für die C-5-Verknüpfung liefert, außer der schon erwähnten fehlenden Nitrosierbarkeit, ein Spektrum der kernmagnetischen Resonanz. Die Spektren des C-Alkylierungsproduktes und des

Ribose-Kondensationsproduktes (siehe S.10) wurden in D_2O aufgenommen. Die Bezugssubstanz der chemischen Verschiebung (Innerer Standard) bildet H_2O . Im charakteristischen Bereich, der H-Atomen an der 5-Stellung zuzuordnen ist, erscheint nur beim N-Derivat ein Signal, nämlich bei -3,0 Einheiten chemischer Verschiebung (δ -Wert):



C-Alkylierungsprodukt



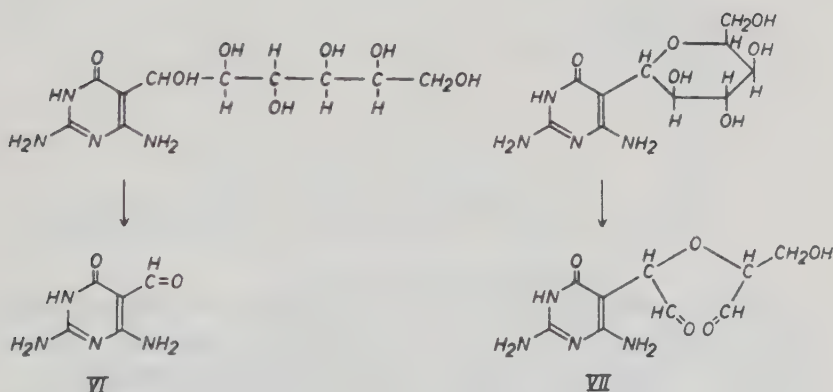
Ribose-Kondensationsprodukt

Es kann also beim kristallinen Umlagerungsprodukt kein H-Atom am Pyrimidin-Kern sitzen, was die Struktur eines C-Alkylierungsproduktes bestätigt.⁺⁾ Da die Werte der Mikro-Analysen für eine Bruttoformel $C_{10}H_{18}N_4O_7 + 1,5 H_2O$ oder

⁺⁾ Für die Aufnahme und Diskussion der KMR-Spektren danke ich Herrn Dr. J. Cromartie (Cambridge).

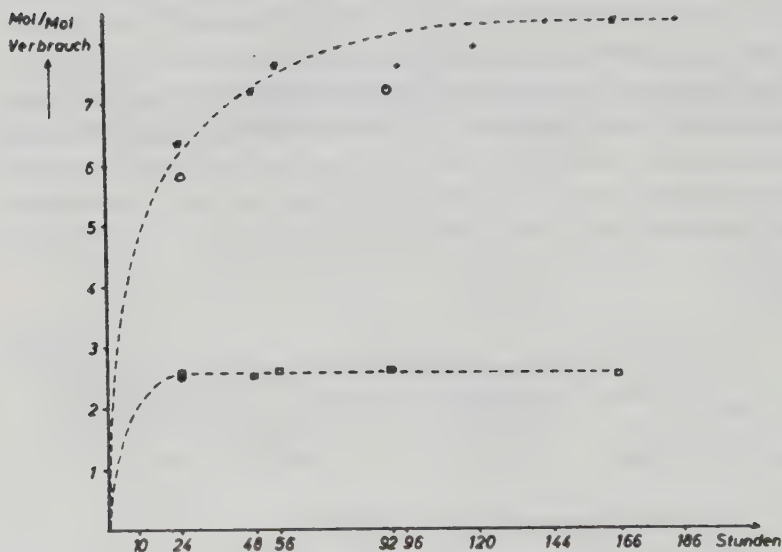
$C_{10}H_{20}N_4O_8 + 0,5 H_2O$ sprechen, kann entweder das offenkettige 5-Pentahydroxy-pentyl-derivat (+ $0,5 H_2O$) oder das cyclische 5-Glukosyl-pyrimidin (+ $1,5 H_2O$) vorliegen.

Um Auskunft über den Bau der Seitenkette des C-Alkylierungsproduktes zu erhalten, wurde es einer Perjodatspaltung unterworfen. Die Oxydation mit anschließender Isolierung der Spaltprodukte sollte je nach Struktur der Seitenkette unter Verbrauch von 5 Mol bzw. 2 Mol Perjodat pro Mol Ausgangsprodukt entweder den Pyrimidinaldehyd VI oder den Dialdehyd VII liefern:



Beim Versuch wurde in nur sehr geringer Menge ein Produkt isoliert, dessen Analysenwerte (C = 28,11; H = 3,78; N = 31,29) weder mit denen von VI (C = 42,19; H = 4,73; N = 21,87) noch mit denen der Substanz VII (C = 39,96; H = 3,93; N = 36,35) übereinstimmen. Das unbekannte Spaltungsprodukt ist schwer löslich in Wasser und Alkohol. Sein UV-Spektrum zeigt, daß der Pyrimidinring noch intakt ist. Die Analysenwerte sprechen für ein höher aufoxydiertes System vom Typ des Alloxanthins.

Bei der quantitativen Perjodatoxydation verbraucht ein Mol C-Alkylierungsprodukt in 24 Stunden ungefähr 6,5 Mol und innerhalb einer Woche 8,3 Mol Perjodat:

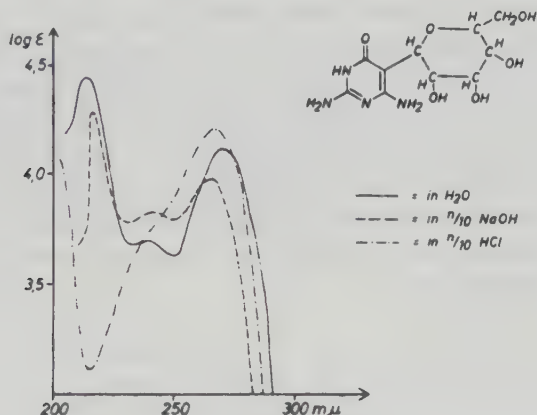


Dieser hohe Verbrauch zeigt, daß sogar der Pyrimidinring sehr rasch angegriffen wird. Zum Vergleich wurde das 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin unter denselben Bedingungen oxydiert. Innerhalb eines Tages verbraucht auch diese Verbindung 2,5 Mol Perjodat. J. Davoll (45) fand bei der Perjodatoxydation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-dihydroxypropylpyrimidin, also einer sehr ähnlichen Verbindung, ebenfalls einen zu hohen Perjodatverbrauch von 2,4 Mol/Mol. Es gibt noch keine Anhaltspunkte darüber, wie die interessante Oxydation dieser Pyrimidine zu erklären ist.

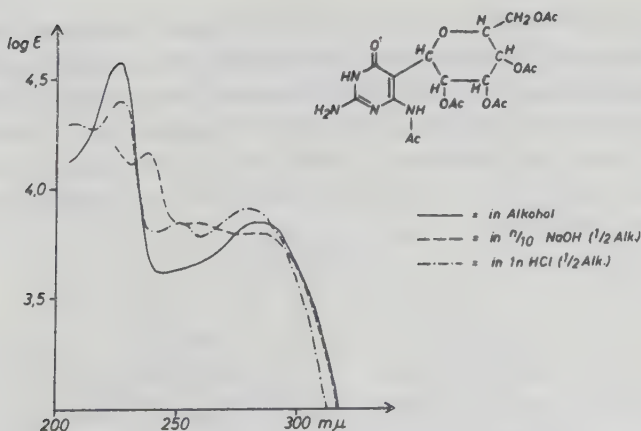
Da die Perjodatspaltung keinen Strukturbeweis liefern konnte, wurde ein Derivat des C-Alkylierungsproduktes hergestellt.

Das C-Alkylierungsprodukt kann in Pyridin/Acetanhydrid acetyliert werden. Es entsteht dabei eine Verbindung, deren Analysenwerte sehr gut mit den theoretischen Werten eines

Penta-acetates der angegebenen Formel gedeutet werden können. Der Vergleich der UV-Spektren des C-Alkylierungsproduktes mit dem des Penta-acetates liefert den ergänzenden Beweis, daß keine offenkettige Struktur der Glucose vorliegt, sondern die des cyclischen Halbacetals:

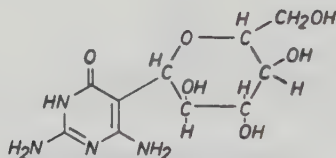


C-Alkylierungsprodukt

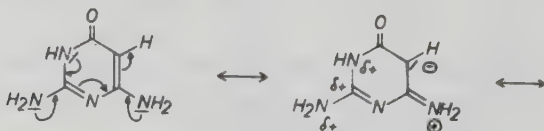


Penta-acetat

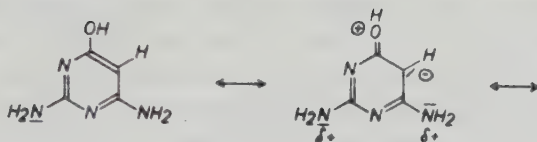
Beim Spektrum des C-Alkylierungsproduktes fällt eine hypsochrome Verschiebung der Maxima beim Ansäuern auf (213 $\rightarrow$ 205 m μ ; 274 $\rightarrow$ 267 m μ), die auf Salzbildung einer Aminogruppe schließen läßt. Beim Penta-acetat fehlt diese Blauverschiebung oder ist viel schwächer (226 $\rightarrow$ 226 m μ ; 283 $\rightarrow$ 280 m μ); also ist hier diese Aminogruppe acetyliert. Auch die Rotverschiebung im Spektrum bei der Bildung des Penta-acetates (214 $\rightarrow$ 226 m μ ; 271 $\rightarrow$ 283 m μ) deutet auf die Acetylierung einer Aminogruppe hin, und zwar auf die der 4-Aminogruppe (43,44). Es bleiben also für den Zuckerrest nur noch 4 acetylierte Hydroxylgruppen, so wie sie für die Struktur des C-5-Glucosids zu fordern sind. Es handelt sich beim C-Alkylierungsprodukt also um das 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-D-glucosyl-pyrimidin:



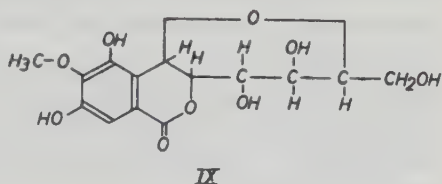
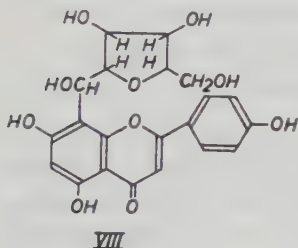
Eine C-Alkylierung ist verständlich, denn En-amine zeigen im Vergleich zu den schwach nukleophilen Doppelbindungen einen stärker nukleophilen Charakter, der für die Reaktion mit dem elektrophilen C-1-Atom der Glucose nötig ist. Die sehr leicht verlaufende Nitrosierung des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins in der 5-Stellung ist ein Ausdruck für diesen Charakter:



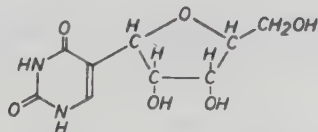
Eine C-5-Alkylierung wäre auch aus der tautomeren Laktimform verständlich:



Das C-Alkylierungsprodukt reiht sich unter bekannte Verbindungen ein, bei denen ein Zucker mit einem aromatischen System verknüpft ist. Es sind dies zum Beispiel die Naturstoffe Vitexin aus Puriri-Holz (46) (VIII) und das Bergenin (47) (IX) aus *Bergenia crassifolia*:



Vor kurzem berichteten F. Allen und W. E. Cohn über die Isolierung (48,49,50) und Strukturaufklärung (49,50,51) einer Verbindung aus Ribonukleinsäure, die mit dem Uridin isomer ist (Ψ -Uridin) und die den Riboserest am Kohlenstoffatom 5 des Uracils trägt:

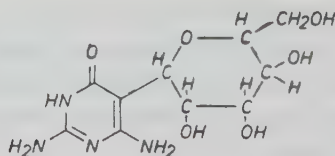


An synthetischen Produkten wurden bis jetzt nur relativ einfach gebaute Pyrimidine beschrieben, die durch C - C - Verknüpfung am Kohlenstoffatom 5 entstanden sind. Bei Arbeiten über die Acylierung von Barbitursäure-Derivaten isolier-

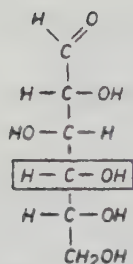
te H. Biltz (52) die 1,3-Dimethyl-5-acetyl-barbitursäure und Pfeleiderer (42) erhielt bei der Formylierung eines 4-Amino-uracils das 1,3-Dimethyl-4-amino-5-formyl-uracil. Auch bei der Umsetzung des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins mit β -Diketonen in Phosphorsäure erfolgt nach R. K. Robins (53) eine Reaktion der 5- (und 4-) Stellung unter Bildung von Pyrido-(2,3-d)-pyrimidinen. Weitere Reaktionen der 5-Stellung von Pyrimidinen (Barbitursäure, Uracil) beschreiben R. Hull (54), W. A. Skinner (55), J. H. Burkhalter (56) und M. Ridi (57).

c) Weitere C-Alkylierungsprodukte des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins:

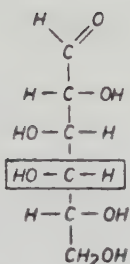
Interessanterweise gibt außer der Glucose noch die D-Mannose mit 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin ein C-Alkylierungsprodukt. Unter ähnlichen Bedingungen wie bei der Glucose-Kondensation entsteht in guter Ausbeute das 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-D-mannosyl-pyrimidin, während unter diesen Bedingungen die D-Galaktose keine Spur von C-Alkylierungsprodukt liefert:



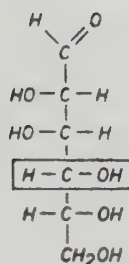
Es scheint also die Hydroxylgruppe in Stellung 4 einen entscheidenden Einfluß auf die Reaktion zu haben:



D-Glucose
C-alk: +



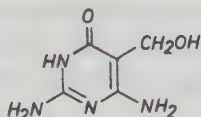
D-Galaktose
C-alk: -



D-Mannose
C-alk: +

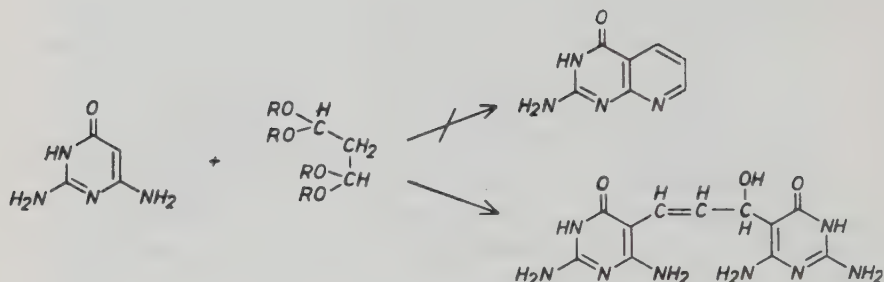
Bei der Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit D-Fruktose erfolgt keine Reaktion. Die Ketogruppe der Fruktose ist zu schwach elektrophil.

Da die Stellung 5 des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins so reaktiv ist, wurde die Umsetzung dieser Verbindung auch mit anderen Aldehyden untersucht. Die Reaktion mit Formaldehyd verläuft extrem leicht unter Bildung der 5-Hydroxymethyl-Verbindung:

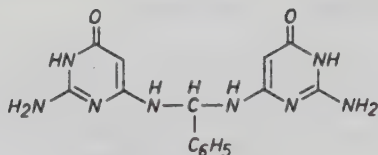


Eine erwartete Mannich-Reaktion (mit Piperidin und Morphin als Basen) kam im Gegensatz zum Uracil (56) nicht zustande. Es bildet sich nur das obige Hydroxymethyl-Derivat.

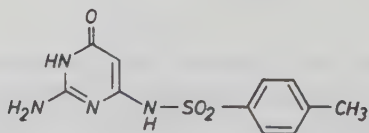
Die Reaktion des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins mit dem Tetraäthyl-acetal des Malondialdehyds, dem 1,1',3,3'-Tetraäthoxy-propan, verlief nicht wie erwartet unter Bildung des Pyrido-(2,3-d)-pyrimidins, sondern unter Verknüpfung zweier Pyrimidine durch doppelte C-Alkylierung:



Die Umsetzung mit Benzaldehyd führt dagegen zu einem nitrosierbaren Produkt, das zwei Pyrimidinringe mit einem Aldehydrest verknüpft enthält:



Auch bei der Umsetzung mit p-Toluolsulfonsäure in Methanol verläuft die Kondensation nicht unter C-Alkylierung, sondern gibt in guter Ausbeute das nitrosierbare N-tosylat:



Wie das Spektrum dieser Verbindung zeigt, vermittelt die Sulfongruppe keine Konjugation zwischen dem Benzolkern und dem 4-Aminopyrimidinrest. Es tritt keine bathochrome Verschiebung gegenüber dem 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin ein, was mit den Erfahrungen von Bredereck (58) übereinstimmt:

UV - Spektren von

2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin:	2-Amino-4-tosylamino-6-hydroxy-pyrimidin:
$\lambda_{\max} = 212 \text{ m}\mu (4,431)$	$\lambda_{\max} = 211 \text{ m}\mu (4,477)$
$\phantom{\lambda_{\max}} = 268 \text{ m}\mu (4,127)$	$\phantom{\lambda_{\max}} = 266 \text{ m}\mu (4,201)$

Auch mit Chloral, Acetaldehyd, Glyoxylsäureester-halbacetal etc. tritt eine rasche Kondensationsreaktion ein, die nicht nitrosierbaren Produkte sind aber meist zersetzlich oder für eine Reinigung zu schwerlöslich.

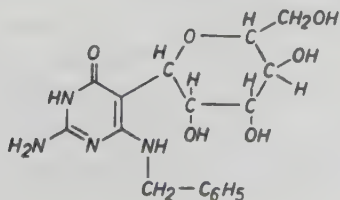
III. Kondensation weiterer Pyrimidine

a) Kondensationen mit D-Glucose

Es drängt sich die Frage auf, wie andere, ähnlich gebaute Pyrimidine mit Glucose unter Bedingungen reagieren, die beim 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin zum 5-Glukosyl-pyrimidin oder zum N-acetal führen. Die Tabelle (siehe S.26) gibt eine Übersicht über die gefundenen Reaktionen. Die Reaktionsbedingungen waren stets mit denen der erwähnten Kondensationen vergleichbar.

Von den angegebenen Befunden fallen, außer den Reaktionen mit Uracil, Cytosin und Isocytosin, drei besonders auf:

1) Bei der Kondensation von 2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin mit Glucose wurde ein C-Alkylierungsprodukt gefaßt:



Es entsteht kein N-Glucosid, das durch den Einfluß der Benzylgruppe möglicherweise doch die erwünschte Amadori-Umlagerung gegeben hätte.

2) Das negative Ergebnis der Kondensationen mit den aromatischen Pyrimidinen (2,4-Diamino-6-methoxy-pyrimidin und 2,4,6-Triamino-pyrimidin) ist eine starke Stütze für die angegebene Struktur des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins (siehe S.7).

C-5 + + +	-	-	+ +
N-4 + + +	-	-	-
C-5 - ?	+	+ ?	-
N-4 + + +	-	-	-
C-5 -	- ?	- ?	- ?

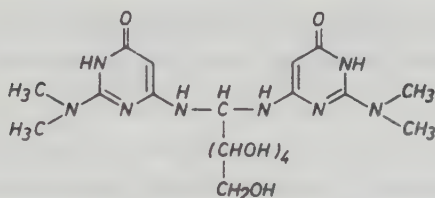
C-5 = Reaktion an C-5
N-4 = " " N-4

+ = schlechte Reaktion
++ = gute "
+++ = sehr gute "
- = keine "

Tabelle 1

Die Erhöhungen der Elektronendichte an C-5 und N-4 werden bei den aromatischen Pyrimidinen eingegeben, eine Kondensation ist unter ähnlichen Bedingungen nicht mehr möglich.

3) Ein besonders interessantes Ergebnis liefert die Kondensation von Aldosen mit 4-Amino-2-dimethylamino-6-hydroxypyrimidin. Unter sehr milden Bedingungen tritt eine nahezu quantitative Reaktion mit Galaktose ein, im Falle der Glucose ist eine Katalyse durch Essigsäure nötig. Das entstehende Produkt entspricht in der Struktur dem Kondensationsprodukt aus 2,4-Diamino-6-hydroxypyrimidin und Galaktose:



Das Produkt ist nitrosierbar, aber auch hier tritt eine Spaltung des Acetals ein, so daß man nur 5-Nitroso-4-amino-2-dimethylamino-6-hydroxypyrimidin isolieren kann.

Die Struktur dieser Produkte bestätigt die früher angeführte Formel für das Galaktose-N-acetal (siehe S.9). Die Reaktion beweist auch, daß die 4-Aminogruppe die kondensationsfähige ist, denn die 2-Aminogruppe ist durch die Methylgruppen besetzt.

Beim erstmalig hergestellten 2-Amino-4-dimethylamino-6-hydroxypyrimidin ist die Maskierung umgekehrt, hier ist die Reaktion mit der 4-Aminogruppe nicht möglich. Der Kondensationsversuch zeigt, daß mit dieser Verbindung, wie erwartet, keine Reaktion eintritt; die einzige freie Aminogruppe in Stellung 2 ist unter dem Einfluß der Guanidinmesomerie zu reaktionsträge für eine Kondensation.

b) Kondensationen mit D-Ribose

Ein wichtiges Kapitel ist das der C-Alkylierung von Uracil und Pyrimidinen wie Cytosin und Isocytosin, die leicht in Uracil übergeführt werden können. Nachdem Allen und Cohn über das 5-Ribosyl-uracil berichtet haben, liegt der Gedanke an eine präparative Synthese nahe. Das Studium der Chemie des Ψ -Uridins, besonders der Abbaureaktionen, wäre sehr wichtig im Hinblick auf eine Sequenzanalyse der l-RNS, die Ψ -Uridin enthält. Ein selektiver Abbau des Ψ -Uridins (etwa mit Hydrazin oder Hydroxylamin) würde die l-RNS in mehrere Bruchstücke zerlegen.

Es wurde daher Uracil mit Ribose umgesetzt. Unter verschiedenen Bedingungen konnte aber keine Reaktion festgestellt werden.

Versuche mit Cytosin und Isocytosin verliefen nur wenig günstiger. In beiden Fällen erscheint zwar bei der Umsetzung mit Ribose im Essigsäuren in geringer Menge eine neue UV-absorbierende Verbindung, eine Isolierung konnte aber nicht erreicht werden. Immerhin ist ein Anhaltspunkt dafür vorhanden, daß es sich bei diesen Reaktionsprodukten um C-Alkylierungsprodukte handelt: Das Kondensationsprodukt zwischen Cytosin und Ribose war mit Natriumnitrit behandelt worden. Im Falle einer C-Alkylierung hätte also, nach Desaminierung der Aminogruppe, das Ψ -Uridin vorliegen müssen oder doch ein Gemisch von Ψ -Uridin und 5-Ribosyl-cytosin. Vom Eluat eines Papierchromatogrammes wurde ein UV-Spektrum aufgenommen, das tatsächlich die starke Rotverschiebung beim Übergang vom Neutralen ins Alkalische zeigt, wie sie für das 5-Ribosyl-uracil charakteristisch ist:

$$\begin{array}{ll} \text{in Wasser } \lambda_{\max} &= 270 \text{ m}\mu; \\ \text{in NaOH } \lambda_{\max} &= 283 \text{ m}\mu; \end{array} \quad \epsilon_{270}/\epsilon_{283} = 0,94$$

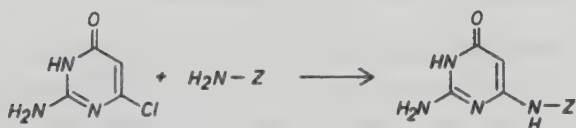
Die Lage der Maxima differiert etwas von denen des -Uridins (263 m μ , 286 m μ), was mit der geringeren Reinheit

des Eluats erklärt werden könnte. Ob eine befriedigende Synthese des Ψ -Uridins auf diesem Wege gelingt, ist allerdings sehr fraglich, selbst wenn bewiesen werden kann, daß die Kondensationsprodukte 5-Ribosyl-pyrimidine sind.

Zum Ψ -Uridin könnte noch die Umlagerung des Uridins führen. Unter Bedingungen, die beim 2,4-Diamino-6-hydroxypyrimidin und Glucose zur C-Alkylierung führen, konnte keine solche Umlagerung entdeckt werden.

IV. Reaktionen zwischen 4-Chlor-2-amino-6-hydroxy-pyrimidin und Aminosukcern

Eine weitere gerichtete Verknüpfungsreaktion zwischen Pyrimidinen und Kohlenhydraten ist die Umsetzung zwischen 4-Chlor-2-amino-6-hydroxy-pyrimidin, einem vinylogenen Säurechlorid, und Aminosukcern:

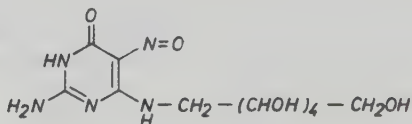


Es würden dabei ebenfalls die an der 4-Aminogruppe mit einer Kohlenhydratfunktion substituierten Pyrimidine entstehen, die (siehe S. 4) für eine gerichtete Synthese von 2-Amino-4-hydroxy-6-polyhydroxyalkyl-pteridinen verwendet werden können. Als Aminosucker kommen dabei in Frage:

- 1) Aminoaldosen (z.B. 1-Amino-glucose)
- 2) Produkte der Amadori-Umlagerung (z.B. 1-Desoxy-1-p-toluidino-fructose) oder
- 3) Glykamine (z.B. D-Galaktamin).

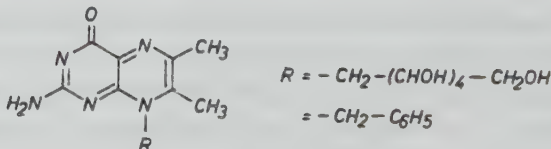
Es wurden Versuche mit Vertretern aller dieser Gruppen gemacht, aber nur mit einem Glykamin, dem Galaktamin, gelang die Umsetzung. Bei allen anderen Beispielen trat eine weitgehende Zersetzung des Zuckeranteils ein, da die Reaktionstemperatur im Bombenrohr etwa 120 - 130° betragen mußte.

Die Kondensation von 4-Chlor-2-amino-6-hydroxy-pyrimidin mit D-Galaktamin verlief sehr gut. Das Kondensationsprodukt wurde nicht isoliert, sondern gleich in wässriger Lösung zum 5-Nitroso-2-amino-4-galaktidylamino-6-hydroxy-pyrimidin weiter umgesetzt, das in 70%iger Ausbeute (auf das Chlorpyrimidin bezogen) anfiel:



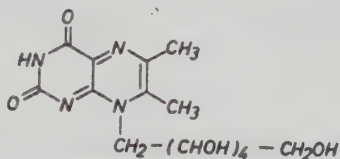
Auch die Umsetzung des Chlorpyrimidins mit Dimethylamin (zum 2-Amino-4-dimethylamino-6-hydroxy-pyrimidin, siehe S. 27) und mit Benzylamin (zum 2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin) verlief in sehr guter Ausbeute.

Um die Struktur zu sichern, wurde dieses Galaktaminderivat in das 8-Galaktidyl-2-amino-4-oxo-6,7-dimethyl-dihydropteridin übergeführt. Die Nitroso-Verbindung wurde dabei mit Natriumdithionit reduziert und mit Diacetyl umgesetzt:



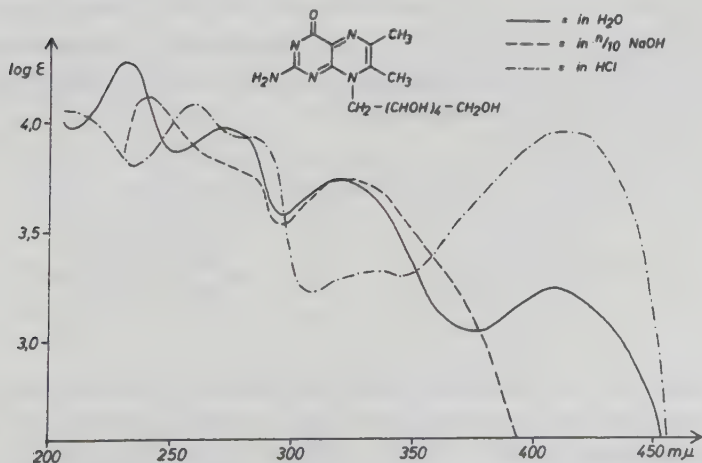
In gleicher Weise wurde aus dem 2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin auch das 8-Benzyl-2-amino-4-oxo-6,7-dimethyl-dihydropteridin hergestellt.

Das 8-Galaktidyl-pteridin hat in der Struktur eine große Ähnlichkeit mit dem 8-Ribityl-2,4-dioxo-6,7-dimethyl-tetrahydropteridin, das T. Masuda (59,60) im Mycel von *Eremothecium ashbyii* entdeckte und das Masuda (61), G. W. Plaut (62), W. S. McNutt (63) und W. Pfeleiderer (64) synthetisierten:



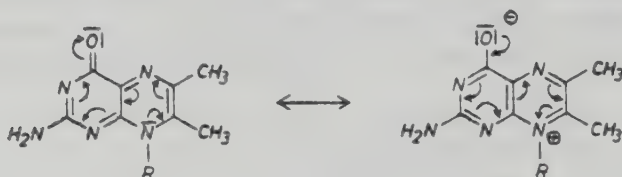
Die UV-Spektren der beiden Verbindungen unterscheiden sich vor allem im Sauren, wo das 8-Galaktidyl-2-amino-4-oxo-6,7-dimethyl-dihydropteridin im Gegensatz zum Masudaschen Pteridin eine langwelligere Absorption zeigt:

Masuda-pteridin: $\lambda_{\max} = 248, 360 \text{ m}\mu$ (H^+)
 $\lambda_{\max} = 258, 275, 407 \text{ m}\mu$ (neutral)
 $\lambda_{\max} = 230, 280, 313 \text{ m}\mu$ (OH^-)

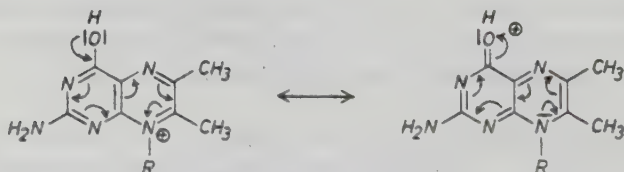


8-Galaktidyl-2-amino-4-oxo-6,7-dimethyl-dihydropteridin

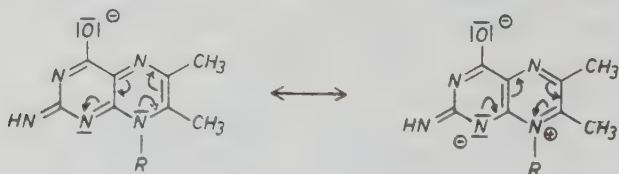
Für die langwellige Bande bei 408 $m\mu$ des Neutramoleküls dürfte wohl folgender ausgedehnter Chromophor verantwortlich sein:



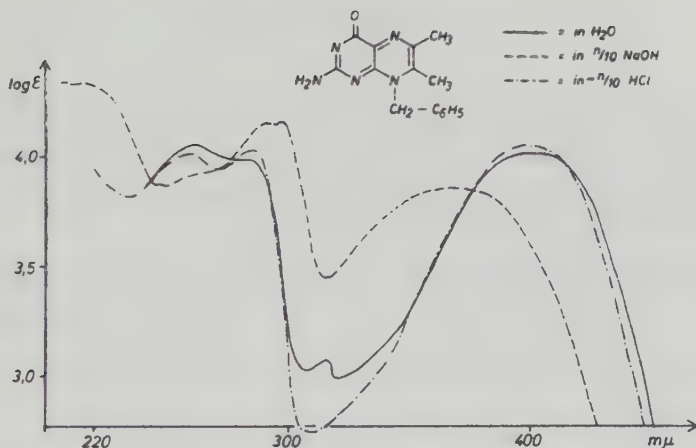
Bei der Protonisierung im Säuren dürfte sicher das O-Atom in Stellung 4 oder das N-Atom 3 der Acceptor des Protons sein, wobei der langwellige Chromophor (410 $m\mu$) erhalten bleibt:



Beim Mono-anion tritt eine hypsochrome Verschiebung nach 322 $m\mu$ auf (Verkürzung des Chromophors). Der neue Absorptionsbereich ist schon beim Neutramolekül in Erscheinung getreten. Für seine Deutung kommt wohl nur der Chromophor von N-1 bis N-8 in Frage:



Das Spektrum des 8-Benzyl-2-amino-4-oxo-6,7-dimethyl-dihydropteridins stimmt weitgehend mit den Literaturwerten für das analoge 8-Methyl-derivat (W. E. Fidler (65)) überein, unterscheidet sich aber etwas von dem der besprochenen 8-Galaktidyl-Verbindung:



Es zeigt sich auch hier die Tatsache, die schon Pfeleiderer (64) beim 8-substituierten Dioxo-pteridin aufgefallen war, daß Substituenten in Stellung 8, vor allem wenn sie Hydroxylgruppen tragen, das Spektrum stark beeinflussen. Zur sauberen Deutung dieser Einflüsse ist aber das vorliegende Tatsachenmaterial noch zu gering.

Das 8-Ribityl-2-amino-4-oxo-6,7-dimethyl-dihydropteridin ist möglicherweise eine biosynthetische Vorstufe des Riboflavins (wie das Masuda-pteridin). In diesem Fall könnte für seine Auffindung und Identifizierung das UV-Spektrum der dargestellten 8-Galaktidyl-Verbindung von Nutzen sein.

Zusammenfassung

Als Beitrag zum Problem einer "gerichteten" Pteridinsynthese wurde die Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxypyrimidin mit Aldosen (Glucose, Galaktose, Mannose, Ribose) untersucht. Es bildeten sich:

- 1) N-Acetale (besonders mit Galaktose und Ribose), bei denen zwei Pyrimidinreste über die 4-Aminogruppe mit dem C-1 -Kohlenstoffatom der Aldosen verknüpft sind. Für eine Pteridinsynthese erwiesen sich diese Acetale als ungeeignet, da bei der Einführung der N-Funktion in Stellung 5 (z.B. durch Nitrosieren) eine fast völlige Abspaltung der Zuckerreste eintritt.
- 2) C-Alkylierungsprodukte (besonders mit Glucose und Mannose), bei denen sich der Glykosylrest in Stellung 5 des Pyrimidins befindet.

Die Struktur der Reaktionsprodukte wurde durch Analysen, Spektren, Derivate und Analogreaktionen gesichert.

Von diesem Befund ausgehend wurde die Fähigkeit anderer Pyrimidine (4-Amino-2-dimethylamino-6-hydroxypyrimidin, 2-Amino-4-dimethylamino-6-hydroxypyrimidin, 4-Amino-uracil, Uracil, Cytosin, Isocytosin, 2,4-Diamino-6-methoxy-pyrimidin, 2,4,6-Triamino-pyrimidin, 2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxypyrimidin und 2,4-Diamino-6-hydroxypyrimidin-5-azomethincarbonsäure-äthylester) zur C-Alkylierung und N-Acetal-Bildung bei der Umsetzung mit Aldosen untersucht. Nur bei der Kondensation von 4-Amino-2-dimethylamino-6-hydroxypyrimidin und 2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxypyrimidin mit Aldosen entstehen isolierbare Reaktionsprodukte.

Andererseits wurden an Stelle der Aldosen verschiedene Aldehyde (Formaldehyd, Benzaldehyd, Malondialdehyd etc.) in die Reaktion mit 2,4-Diamino-6-hydroxypyrimidin eingesetzt. Hier erfolgte fast durchwegs eine C-Alkylierung.

Um ein 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin zu synthetisieren, das an der 4-Aminogruppe eine Zuckerfunktion trägt, wurde auch die Reaktion von 4-Chlor-2-amino-6-hydroxy-pyrimidin mit Aminosuktern untersucht. Mit Galaktamin konnte ein N-4-substituiertes Pyrimidin erhalten werden, nämlich das 5-Nitroso-2-amino-4-galaktidylamino-6-hydroxy-pyrimidin (nach Nitrosierung), aus dem dann das 8-Galaktidyl-2-amino-4-oxo-6,7-dimethyl-dihydropteridin hergestellt wurde.

Die Spektren (UV-, IR-, KMR-) dieser Verbindungen wurden aufgenommen und diskutiert.

Experimenteller Teil

Die Mikroanalysen wurden von A. Bernhardt, Mülheim, und Dr. A. Schoeller, Kronach, ausgeführt.

Die UV-Spektren wurden mit dem Spektralphotometer DK 2 (Beckman), die IR-Spektren mit dem Spektralphotometer M 21 (Perkin-Elmer) aufgenommen. Die quantitative Auswertung der Papierchromatogramme erfolgte mit dem Chromatogrammzusatzgerät zum Spektralphotometer PMQ II (Zeiss).

Zur Charakterisierung der Pyrimidine wurden folgende papierchromatographische Systeme verwendet:

System A: Butanol/Eisessig/Wasser (20/3/7)

System B: 3%ige Ammoniumchloridlösung

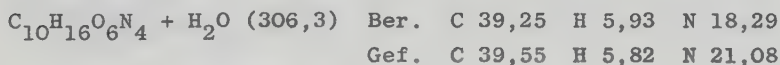
System C: 4%ige Natriumcitratlösung

System D: sec-Butanol/90%ige Ameisensäure/Wasser (8/2/5).

Es wurde mit dem Papier 2043 b (Schleicher & Schüll) aufsteigend chromatographiert. Die Pyrimidinverbindungen lassen sich auf dem getrockneten Chromatogramm über einer UV-Lampe (UG 5-Filter; Hg-Linie bei 253,4 m μ) durch ihre Fluoreszenzlöschung nachweisen. Zur Lokalisierung der Pteridine wurde mit einer UV-Lampe bestrahlt (366 m μ). Es zeigen sich dann die fluoreszierenden Flecken der Pteridine.

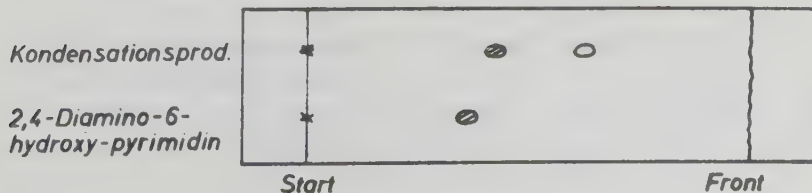
1) Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit D-Glucose

34,5 g (0,27 Mol) 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (44), 34,5 g (0,19 Mol) Glucose und 1 g Ammoniumchlorid werden in 250 ccm Alkohol und 200 ccm Wasser heiß gelöst. Nach 5-stdg. Kochen auf dem Wasserbad wird auf ungefähr 250 ccm eingengt und die dreifache Menge Aceton zugesetzt. Der sich bildende Niederschlag wird am nächsten Tag abgetrennt und mit Methanol behandelt, bis er fest wird. Nach einmaligem Umfällen mit Aceton aus der wässrigen Lösung beträgt die Ausbeute 30 g (51 %). Durch häufiges Umfällen kann man das Produkt soweit reinigen, daß es chromatographisch einheitlich ist. Es läßt sich nicht umkristallisieren, sondern fällt stets als gelbes Öl aus, das beim Behandeln mit Methanol fest wird, aber keine Kristalle bildet. Bei längerem Stehen verfärbt sich die Substanz. Ab 180° tritt Zersetzung ein.



2) Chromatographie der Kondensationsprodukte

Das rohe Kondensationsprodukt wurde im System C chromatographiert, wobei sich zwei Flecken ($R_f = 0,42$ und $0,62$) zeigen. Wenn man die Chromatogramme in etwa 1%iger Natriumnitritlösung und anschließend in 1 n Essigsäure badet, so färbt sich der untere Fleck rot, der Fleck mit $R_f = 0,62$ bleibt farblos. 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin ($R_f = 0,36$) nimmt ebenfalls eine himbeerrote Farbe an:



Die schneller wandernde Verbindung ($R_f = 0,62$) ist also nicht nitrosierbar. Durch Nitrosierung auf dem Papier können noch 10 μ 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin auf einem normal großen Fleck sicher nachgewiesen werden. Die UV-Absorption der Flecken bleibt nach der Nitrosierung die gleiche; es sind weniger als 1 μ Pyrimidin im UV-Licht erkennbar.

3) 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-D-glukosyl-pyrimidin

180 g Glucose (1 Mol) und 123 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (0,98 Mol) werden in 500 ccm Wasser unter Rückfluß gekocht. Als Katalysator werden 20 ccm Eisessig zugesetzt. Nach 5 Stdn. wird von einem geringen Niederschlag heiß abfiltriert, dann läßt man das Reaktionsprodukt im Eisschrank auskristallisieren. Nach Umkristallisation aus 200 ccm Wasser beträgt die Ausbeute 194 g (68 % bezogen auf das Pyrimidin). Durch Einengen der Mutterlaugen kann die Ausbeute noch erhöht werden. Man erhält farblose Nadeln, die im Papierchromatogramm nur einen Flecken bei $R_f = 0,62$ (System C) zeigen. Die Verbindung ist nicht nitrosierbar. Z.P. 190-200°. Versuche, die Verbindung katalytisch zu hydrieren, verliefen unter verschiedenen Bedingungen (Eisessig, Alkohol, Alkohol/Wasser ..) ergebnislos.

$C_{10}H_{16}O_7N_4 + 1,5 H_2O$ (315,3) Ber. C 38,09 H 6,08 N 17,77
Gef. C 38,04 H 6,10 N 17,31

UV-Spektrum in Wasser	λ_{max} = 213 $m\mu$ (4,444)
	= 239 $m\mu$ (3,699)
	= 271 $m\mu$ (4,127)
n/10 HCl	= 267 $m\mu$ (4,211)
n/10 NaOH	= 216 $m\mu$ (4,294)
	= 241 $m\mu$ (3,830)
	= 265 $m\mu$ (3,982)

4) Umlagerung zum 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-D-glukosyl-pyrimidin

1 g des Gemisches aus Versuch 1 wurde auf dem Wasserbad in 20 ccm Alkohol und 10 ccm Wasser erhitzt. In gewissen Zeitabständen wurde eine Probe chromatographiert. Man kann das Mengenverhältnis der Komponenten dadurch erfassen, daß man die Absorption der beiden Flecken auf den Papierchromatogrammen bei 265 μ quantitativ ausmißt und miteinander vergleicht. Das Chromatogrammzusatzgerät zum Spektrophotometer der Firma Zeiss ist dafür gut geeignet. Die für die laufenden R_f -Werte erhaltenen Absorptionen werden aufgetragen und die entstandenen Kurven werden planimetriert. Das Flächenverhältnis entspricht dem Mengenverhältnis der Substanzen in den Flecken. Es zeigt sich, daß das Verhältnis mit der Zeit zu Gunsten des C-Alkylierungsproduktes ansteigt:

Zeit (Stunden):	0	1	2	4
% C-Alkylierungsprodukt:	31,2	32,4	35,2	45,1

Die Werte bei 8 Stunden Kochzeit sind nicht mehr zu gebrauchen, da das Produkt bei $R_f = 0,42$ keinen einheitlichen Gipfel mehr gibt.

Chromatographiert man das trockene Ausgangsmaterial nach zweitägigem Stehen bei Zimmertemperatur, so kann man bereits eine Verschiebung von 31,2 auf 36,6 % C-Alkylierungsprodukt feststellen.

5) Acetylierung des 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-D-glukosyl-pyrimidins

5 g C-Alkylierungsprodukt wurden in 20 ccm Pyridin und 50 ccm Acetanhydrid suspendiert. Es löste sich auch nach kurzem Erwärmen nur ein Teil. Das Ungelöste wurde abgetrennt und die Lösung im Eisschrank aufbewahrt. Am nächsten Tag wurde die Lösung auf einen Liter Eiswasser gegossen, wobei sich

kein Niederschlag bildete; dann wurde im Vakuum eingeeengt und der Rückstand aus Butanol, Propanol und zweimal aus Alkohol umkristallisiert. Der Schmelzpunkt beträgt 157 - 160° (Z.). Die Analysenwerte sind auf ein Penta-acetat des 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-glukosyl-pyrimidin berechnet:

$C_{20}H_{26}N_4O_{11}$ (498,44) Ber. C 48,19 H 5,26 N 11,24
Gef. C 48,25 H 5,25 N 11,25

UV-Spektrum	in Äthanol	λ_{max}	= 226 μ (4,581)
			= 283 μ (3,846)
	1 n HCl		= 226 μ (4,407)
			= 250 μ (3,847)
			= 279 - 280 μ (3,905)
	n/10 NaOH		= 236 μ (4,164)
			= 260 μ (3,842)
			= 280 μ (3,797)

6) Perjodatspaltung des 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-D-glukosyl-pyrimidins

a) 3,06 g (10 mMol) des C-Alkylierungsproduktes wurden mit 16 g Natriumperjodat (75 mMol) in 100 ccm Wasser gelöst und im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Es trat ein Niederschlag auf, der zu Hauptsache aus Natriumjodat besteht und nach zweitägigem Stehen abgetrennt wurde. Beim Erhitzen mit wenig Wasser gingen die farblosen Kristalle in Lösung und es blieb wenig amorphe Substanz zurück, die abgetrennt wurde und nach dem Trocknen 351 mg wog. Schmelzpunkt: höher als 360°. Aus der Mutterlauge wurde nach dem Einengen kein weiteres Pyrimidin isoliert. Die Substanz absorbiert im UV-Licht bei 205 und 287 μ . Sie geht sehr schwer in Lösung: 200 ccm Wasser lösen 50 - 60 mg in der Siedehitze. Die Analysendaten (C = 28,11, H = 3,78, N = 31,29) einer aus Wasser umkristallisierten Probe können nicht gedeutet werden.

b) Quantitative Spaltung:

Zur Oxydation diene eine stets im Dunkeln aufbewahrte 0,25 m Natriumperjodatlösung (13,370 g NaJO_4 in 250 ml Wasser). Der 0,1 n Arsenitlösung (Titrisol) wurden auf den Liter 50 g Natriumbikarbonat zugesetzt.

30,6 mg (0,1 mMol) Substanz wurden in einen 25 ml Meßkolben eingewogen und dieser unter Zusatz von 5 ml 0,25 m NaJO_4 -Lösung aufgefüllt. Eine weitere Probe von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (12,6 mg = 0,1 mMol) wurde auf die gleiche Weise angesetzt und außerdem eine Blindprobe, die nur Perjodat enthielt. Nach bestimmten Zeiten wurden aus den im Dunkeln aufbewahrten Meßkolben je 3 ml entnommen und diese jeweils mit 5 ml 1 m NaHCO_3 -Lösung und 2 ml 20%iger Kaliumjodidlösung versetzt und mit 0,1 n Arsenitlösung unter Verwendung von Stärkelösung titriert.

3 ml Lösung enthielten 0,012 (0,1 · 3/25) mMol Substanz. 1 ml 0,1 n Arsenitlösung entspricht 0,05 mMol Perjodat. Ein Mehrverbrauch von 0,012/0,05 = 0,24 ml an 0,1 n Arsenitlösung der Blindprobe gegenüber der Testlösung zeigt also den Verbrauch von 1 Mol Perjodat durch ein Mol Substanz an.

Verbrauch an Perjodat:

I. 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin:

Zeit (h)	Blindprobe (ml 0,1 n Arsenitlösung / 3 ml Probelösung)	Testlösung	Differenz	Mol/Mol
24	3,00	2,39	0,61	2,52
92	3,00	2,37	0,63	2,61
24	3,00	2,38	0,62	2,58
48	3,00	2,39	0,62	2,58
56	3,00	2,377	0,623	2,60
166	3,00	2,39	0,61	2,52

II. 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-D-glukosyl-pyrimidin:

Zeit (h)	Blindprobe (ml 0,1 n Arsenitlösung)	Testlösung / 3 ml Probelösung)	Differenz	Mol/Mol
24	3,00	1,475	1,525	6,35
48	3,00	1,27	1,73	7,2
56	3,00	1,172	1,828	7,6
166	3,00	1,00	2,00	8,3
96	2,975	1,138	1,837	7,6
120	2,97	1,07	1,90	7,9
144	2,965	0,960	2,005	8,3
186	2,970	0,98	1,99	8,3
306	2,97	0,83	2,14	8,9

7) Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit D-Galaktose

2,52 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (20 mMol) werden mit 1,8 g D-Galaktose in 13 ccm Alkohol und 7 ccm Wasser unter Zusatz von 0,2 ccm Eisessig gekocht. Nach 6 Stunden läßt man abkühlen, wobei ein gelbgefärbter Niederschlag ausfällt. Durch Zusatz von etwa 50 ccm Aceton wird der Niederschlag verstärkt. Die Gesamtausbeute beträgt $2,9 + 0,9 = 3,8$ g (92 %). Im Papierchromatogramm zeigen sich zwei nitrosierbare (!) Flecken ($R_f = 0,41$ und $0,50$ im System C). Bei mehrfachem Umkristallisieren aus Wasser erhält man farblose Kristalle mit dem R_f -Wert $0,41$ (System C). Der Zersetzungspunkt liegt bei $228 - 230^\circ$. Ein nicht nitrosierbares Produkt tritt nicht oder nur in Spuren auf.

Alle Versuche, die Verbindung katalytisch zu hydrieren, mißlangen. Weder mit Raney-Nickel, noch mit PtO_2 fand in verschiedenen Lösungsmitteln (Eisessig, Alkohol, Wasser ..) eine Wasserstoffaufnahme statt. Auch eine Druckhydrierung

(100 at, Raney-Nickel) verlief ergebnislos.

$C_{14}H_{22}N_8O_7 + 0,5 H_2O$ (423,39) Ber. C 39,71 H 5,48 N 26,46
Gef. C 39,59 H 5,45 N 26,25

UV-Spektren	in Wasser	λ_{max}	= 210 m μ	(4,635)
			= 273 m μ	(4,336)
	HCl		= 265 m μ	(4,467)
	NaOH		= 267 m μ	(4,248)

8) Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit D-Ribose

7,8 g Ribose (0,05 Mol) werden mit 10,3 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (0,08 Mol) und 0,5 g Ammoniumchlorid in 150 ccm Wasser erhitzt. Nach 3 1/2 Stunden wird auf die Hälfte eingengt und mit Aceton gefällt. Nach Behandeln mit Methanol und Trocknen wiegt der Niederschlag 10,7 g (30 %). Er zeigt im Papierchromatogramm mehrere Flecken. Nach häufigem Umfällen aus wässriger Lösung mit Aceton kann man aus Wasser umkristallisieren. Es zeigt sich dann nur noch ein Fleck ($R_f = 0,49$ in System C); der Zersetzungspunkt der farblosen Kristalle liegt bei 180°.

$C_{13}H_{20}N_8O_6$ (384,35) Ber. C 40,62 H 5,25 N 29,16
Gef. C 42,51 H 5,96 N 27,02

UV-Spektren	in Wasser	λ_{max}	= 210 m μ	(4,544)
			= (250) m μ	(3,964)
			= 273 m μ	(4,241)
	HCl		= 265 m μ	(4,371)
	n/10 NaOH		= 247 m μ	(4,017)
			= 267 m μ	(4,185)

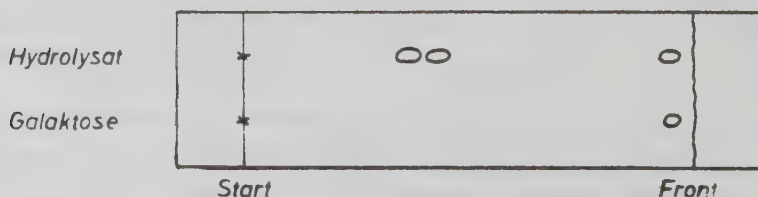
9) Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit
4,6-Benzal-glucose

Auf dem Wasserbad werden 2,5 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (20 mMol) und 5,36 g 4,6-Benzal-glucose (66) (20 mMol) in 50 ccm Alkohol erhitzt. Es löst sich fast alles, die Lösung bleibt aber trüb. Nach 30 Minuten bildet sich ein Niederschlag, der nach weiteren 15 Minuten Kochen abgesaugt wird. Ausbeute 2,3 g (46 %). Zersetzungsintervall 200 - 240°.

$C_{21}H_{26}N_8O_7 + 2 H_2O$ (538,51) Ber. C 46,84 H 5,62 N 20,81
Gef. C 46,97 H 5,45 N 19,87

10) Hydrolyse des Kondensationsproduktes aus 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin und D-Galaktose (N-Acetal)

100 mg Galaktose-Kondensationsprodukt werden in 10 ccm 0,1 n Schwefelsäure auf dem Wasserbad erhitzt. Nach 30 Minuten läßt man abkühlen und neutralisiert. Im Papierchromatogramm (System C) zeigt sich der absorbierende Fleck des Ausgangsmaterials ($R_f = 0,42$) und außerdem der des 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidins ($R_f = 0,36$). Entwickelt man mit Triphenyl-tetrazolium-chlorid (Besprühen mit 1%iger Lösung in 0,5 n NaOH, kurzes Trocknen), so erscheint außerdem ein roter Fleck auf gleicher Höhe mit Galaktose als Vergleichssubstanz:



11) Kupplung der Kondensationsprodukte mit Diazoniumsalzen

Kuppelt man die Kondensationsprodukte von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin und Galaktose, Ribose, Glucose und 4,6-Benzalglucose mit p-Nitranilin-anti-diazotat (38) in der Kälte, oder mit frisch bereiteter Diazoniumlösung (37), so ergeben sich Produkte, die nach ihren IR-Spektren keine Zucker enthalten. Die Stickstoffanalyse einer ungereinigten Probe (32,78%) kommt dem berechneten Wert der zuckerfreien Azoverbindung (35,66%) recht nahe (für das Glukosid wäre $N = 22,42$).

12) Nitrosierungen

Nitrosiert man die Kondensationsprodukte (mit Ausnahme des C-Alkylierungsproduktes) durch Versetzen einer wässrigen Lösung mit Natriumnitrit und Essigsäure, so erhält man einen himbeerroten Niederschlag, der im IR-Spektrum keine C - O - Banden zwischen 9 und 10 μ zeigt. Das Spektrum ist identisch mit dem des 5-Nitroso-2,4-diamino-6-hydroxy-pyrimidins. Die Mutterlauge ist ganz schwach rosa gefärbt. Wenn man vorsichtig mit Amylnitrit oder in einem Acetatpuffer bei niedriger Temperatur nitrosiert, erhält man ebenfalls kein Produkt mit Kohlehydratbanden im IR-Spektrum. Man kann aber aus der Mutterlauge der Nitrosierung geringe Mengen von 5-Nitroso-2-amino-4-galaktosylamino-6-hydroxy-pyrimidin isolieren:

Aus 54 g rohem Kondensationsprodukt von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit Galaktose wurde die Nitroso-Verbindung hergestellt, indem kleine Portionen (etwa 10 g) in wässriger Lösung mit einem Überschuß von Natriumnitrit und einigen Tropfen Eisessig versetzt wurden. Sobald sich eine kräftig rote Farbe entwickelt hatte, wurde in einem Guß überschüssige Natronlauge zugegeben und vom Alkalischen her neutrali-

siert. Das hauptsächlich entstandene 5-Nitroso-2,4-diamino-6-hydroxy-pyrimidin wurde abgesaugt und die Lösung des Nitrosogalaktosides im Vakuum eingengt. Es folgte mehrfache Chromatographie über Cellulose und Ekteola-Cellulose sowie mehrfaches Umfällen aus wässriger Lösung mit Aceton. Es konnten so eine schwach rote und eine blaue Substanz gewonnen werden. Beide waren in ihren reinsten Fraktionen im Papierchromatogramm nicht ganz rein. Sie zeigten denselben Hauptfleck im Chromatogramm. Die rote Verbindung wandelt sich bei der Säulenchromatographie teilweise in die blaue um.

Blaue Verbindung:

Rote Verbindung:

beide $C_{10}H_{15}N_5O_7 + H_2O$ (325,3)

Ber. C 36,92 H 5,27 N 21,53

Ber. C 36,92 H 5,27

Gef. C 37,51 H 5,89 N 21,14

Gef. C 38,51 H 6,10

Es wurde aus 20 g Galaktose-Kondensationsprodukt (N-Acetal) die Nitrosoverbindung wie oben gewonnen und deren Lösung mit Natriumdithionit versetzt; die rote Farbe verschwindet rasch. Nach Zugabe von Diacetyl entstanden zwei Pteridine ($R_f = 0,34$ und $0,60$ im System C). Auf einer Celite/Magnesol-Säule wurde das mit Wasser rascher wandernde Pteridin abgetrennt und isoliert. Das UV-Spektrum zeigt in Wasser Maxima bei 210, 274 und $345 - 350$ m μ . Für eine Elementaranalyse war das Pteridin zu unrein (es zeigte im IR-Spektrum anorganische Bestandteile); für eine weitere Reinigung war die Substanzmenge zu gering.

13) Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit
1,2,3,4,6-Pentaacetyl-D-glucose

2,5 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin und 7,8 g Pentaacetylglucose wurden in 40 ccm Alkohol/Wasser (1/1) unter Zusatz einer Spur Ammoniumchlorid gekocht. Nach 4 Stunden

zeigte sich im Papierchromatogramm (System C) außer dem Fleck des Ausgangsmaterials noch ein schwacher Fleck mit höherem R_f -Wert. Die fehlende Nitrosierbarkeit läßt auf ein C-Alkylierungsprodukt schließen.

Aus einem anderen Ansatz, bei dem unter Essigsäurekatalyse 19 Stunden erhitzt worden war, konnte in geringer Menge ein C-Alkylierungsprodukt isoliert werden. F.P. 207° . Die Analyse entspricht einer Monoacetylverbindung:

$C_{12}H_{18}N_4O_7 + 0,5 H_2O$ (339,3) Ber. C 42,47 H 5,64 N 16,52
Gef. C 42,06 H 5,27 N 16,91

14) 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-D-mannosyl-pyrimidin

3 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (23,8 mMol) und 4,5 g D-Mannose (25 mMol) werden in 25 ccm Wasser gelöst und mit 1 ccm Eisessig versetzt. Bei 2,5 -stündigem Erhitzen auf dem Wasserbad tritt leichte Verfärbung auf. Beim Abkühlen bildet sich ein orangefarbener Niederschlag, der durch Alkoholzusatz verstärkt wird. Ausbeute: 3,7 g (53 %). Nach Umkristallisieren aus Wasser erhält man farblose Kristalle vom Z.P. 178° . Wenn die Substanz noch Kristallwasser enthält, tritt auch bei $107-110^{\circ}$ noch ein Schmelzpunkt auf; der Zersetzungspunkt liegt dann bei $185 - 200^{\circ}$. R_f -Wert = 0,58 - 0,61 (System C). Die Substanz ist nicht nitrosierbar!

$C_{10}H_{16}N_4O_6 + 1,5 H_2O$ (315,29) Ber. C 38,10 H 6,07 N 17,77
Gef. C 38,04 H 5,87 N 17,25

UV-Spektren	in Wasser	λ_{max} =	271 μ	(4,100)
	HCl	=	269 μ	(4,179)
	NaOH	=	238 μ	(3,767)
		=	265 μ	(3,939)

Wenn man ohne Essigsäurekatalyse in Alkohol/Wasser die Komponenten erhitzt, erhält man bei 2,5-stündigem Kochen auf

dem Wasserbad in 93%iger Rohausbeute ein Gemisch, das aus mehreren nitrosierbaren Pyrimidinen besteht. Z.P. ab 180°.

15) Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit
D-Fruktose

12,6 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin werden mit 18 g Fruktose in 100 ccm Alkohol unter Zusatz einer Spatelspitze Ammoniumchlorid erhitzt. Es zeigt sich nach 3-stündigem Kochen kein absorbierender Fleck im Papierchromatogramm, außer dem des Ausgangsmaterials. Beim Einengen kristallisiert das 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin wieder aus. Auch wenn man Essigsäure als Katalysator verwendet, kann kein Kondensationsprodukt isoliert werden.

16) Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit
Benzaldehyd

2,5 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin in 100 ccm Wasser und 2 g Benzaldehyd in 100 ccm Alkohol werden zusammengegeben und kurz erwärmt. Beim Einengen auf etwa 1/4 des Volumens fällt ein Niederschlag aus. R_f-Wert (System C) = 0,2 - 0,3. Der Zersetzungspunkt liegt bei 264 - 266°.

$C_{15}H_{16}N_8O_2 + 1,5 H_2O$ (367,36) Ber. C 49,05 H 5,21 N 30,51
Gef. C 49,08 H 5,08 N 30,06

17) Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit
p-Toluolsulfonsäure

4 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin (31,7 mMol) und 19 g p-Toluolsulfonsäure (110 mMol) werden in 300 ccm Methanol 3 Stunden unter Rückfluß gekocht. Beim Einengen fällt ein Nie-

derschlag in farblosen Nadeln aus, der aus Methanol umkristallisiert wird. Ausbeute: 5,8 g (65 % auf das Pyrimidin bezogen). Smp. 263°. Die Substanz ist nitrosierbar.

$C_{11}H_{12}N_4SO_3 + H_2O$ (298,27) Ber. C 44,28 H 4,74 N 18,78
Gef. C 44,08 H 4,75 N 19,07

UV-Spektren	in Wasser	λ_{max}	= 211 m μ	(4,477)
			= 266 m μ	(4,201)
	HCl		= 221 m μ	(4,137)
			= 264 m μ	(4,286)

18) 2,4-Diamino-6-hydroxy-5-hydroxymethyl-pyrimidin

a) Man kocht 12,6 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin und 3,3 g Paraformaldehyd zusammen mit 8,5 g Piperidin (oder 8,7 g Morpholin) in 500 ccm 95%igem Alkohol. Nach 8-stündigem Kochen fallen 3,6 (bzw. 5,3) g eines weißen Niederschlags aus. Es konnte kein Mannich-Kondensationsprodukt isoliert werden. Z.P. höher als 290°.

$C_5H_8N_4O_2$ (156,15) Ber. C 38,45 H 5,16 N 35,88
(für Morpholin) Gef. N 35,65
(für Piperidin) Gef. C 38,04 H 4,93

b) 2,5 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin werden in 200 ccm Wasser warm gelöst und 2 ccm 40%iger Formalinlösung in 10 ccm Wasser unter Rühren zugetropft. Nach einigen Sekunden fallen weiße Nadeln aus, die abgetrennt werden. Ausbeute: 1,4 g (45 %). Im Papierchromatogramm ist die Substanz identisch mit dem Produkt aus Versuch a). Sie ist nicht nitrosierbar.

19) 2-Amino-4-dimethylamino-6-hydroxy-pyrimidin

5 g 4-Chlor-2-amino-6-hydroxy-pyrimidin (67) und 30 ccm 33%ige wässrige Dimethylaminlösung werden 3 Stunden im Bom-

benrohr auf 135 - 140° erhitzt. Nach Abkühlen werden die entstandenen gelben Kristalle isoliert. Ausbeute: 2,5 g (48 %). Beim Umkristallisieren aus Methanol erhält man farblose Tafelchen vom Z.P. höher als 350°. Das Produkt ist nicht nitrosierbar.

$C_6H_{10}N_4O$ (154,17) Ber. C 46,74 H 6,54 N 36,34
Gef. C 47,08 H 6,62 N 36,06 (36,42)

UV-Spektren	in Wasser	λ_{max}	= 224,5 μ	(4,418)
			= 272 μ	(4,307)
	HCl		= 210 μ	(4,207)
			= 272 μ	(4,322)
	n/10 NaOH		= 268 μ	(4,140)

20) 2-Amino-4,6-dihydroxy-pyrimidin

Die Vorschrift ist eine Verbesserung der Synthese nach W. Traube (68):

In einem 2-Liter-Dreihalskolben wird aus 46 g Natrium (2 Mol) und 1,2 Liter Methanol Alkoholat bereitet. Zu dem noch warmen Methylat wird unter Rühren 97 g Guanidin-hydrochlorid (1 Mol) zugegeben und eine viertel Stunde unter Rückfluß gekocht. Dann werden aus einem Tropftrichter unter weiterem Rühren und Erwärmen 132 g = 115 ccm Malonsäuremethylester (1 Mol) zugegeben (Vorsicht, Übersäumen bei zu rascher Zugabe) und noch 1 Stunde unter Rückfluß gekocht. Der Niederschlag wird vom Methanol abgesaugt und in 1,5 Litern Wasser gelöst. Nach vorsichtigem Neutralisieren mit etwa 65 ccm Eisessig fällt ein weißer Niederschlag aus, der abgetrennt und mit Methanol gewaschen wird. Ausbeute: 125 g (98 %).

21) 2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin

5,4 g 4-Chlor-2-amino-6-hydroxy-pyrimidin (37 mMol) werden mit 10 g Benzylamin (93,5 mMol) 3 Stunden bei 90 - 100° und eine Stunde bei 130° im Bombenrohr erhitzt. Das Reaktionsgemisch wird mit 200 ccm warmem Alkohol herausgewaschen und vom Ungelösten abgesaugt. Beim Einengen der Lösung fällt ein Niederschlag aus. Nach mehrmaligem Umkristallisieren aus viel Wasser und aus Alkohol liegt der Smp. bei 217°. Ausbeute 6,1 g (76 %).

$C_{11}H_{12}N_4O$	(216,24)	Ber.	C 61,09	H 5,59	N 25,91
		Gef.	C 60,94	H 5,60	N 25,92

UV-Spektren	in Äthanol	λ_{max}	= 221 μ	(4,344)
			= 271 μ	(4,176)
	HCl		= (220) μ	(4,260)
			= 265,5 μ	(4,193)
	NaOH		= 265 μ	(4,079)

22) 5-Nitroso-2-amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin

Versetzt man eine heiße Lösung von 2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin in Wasser mit überschüssigem Natriumnitrit und säuert mit 2 n Essigsäure an, so fällt ein rosa-roter, kristalliner Niederschlag von 5-Nitroso-2-amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin aus. Z.P. 265 - 270°.

$C_{11}H_{11}N_5O_2$	(245,24)	Ber.	C 53,87	H 4,52	N 28,56
		Gef.	C 54,16	H 4,65	N 28,60

UV-Spektren	in n/10 NaOH	λ_{max}	= (270) μ	(3,830)
			= 320 μ	(4,318)

23) Kondensation von 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin mit
1,1',3,3'-Tetraäthoxypropan

2,5 g 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin und 5 ccm Tetra-
äthoxypropan werden in 40 ccm Alkohol/Wasser (1/1) erhitzt.
Nach etwa 1-stündigem Kochen zeigen sich glänzende Schuppen.
Nach 5,5 Stunden werden die Kristalle abgesaugt und ge-
trocknet. Ausbeute: 1,9 g (62,5 %). Z.P. über 330°. Zur
Analyse wird eine Probe mehrmals aus Wasser umkristalli-
siert.

$C_{11}H_{14}N_8O_3$ (306,3) Ber. C 43,13 H 4,61 N 36,58
Gef. C 43,13 H 4,73 N 36,21

24) 2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxy-5-D-glukosyl-pyrimidin

1 g 2-Amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin (Versuch
21) und 1 g Glucose werden in 10 ccm Wasser und 0,1 ccm
Eisessig 7 Stunden gekocht. Es wird dann mit Wasser auf
40 ccm verdünnt und mit Aktivkohle behandelt. Das Filtrat
wird eingeeengt und der entstehende Niederschlag mehrmals
aus Alkohol/Wasser umkristallisiert. Die farblosen Nadeln
schmelzen bei 195°. Sie sind nicht nitrosierbar.

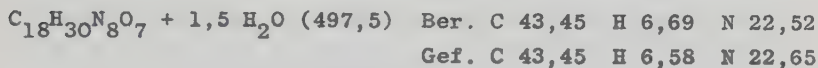
$C_{17}H_{22}N_4O_6 + 1,5 H_2O$ (387,39) Ber. C 52,71 H 5,99 N 14,46
Gef. C 52,78 H 6,02 N 14,42

UV-Spektren	in Wasser	$\lambda_{\max}$	= 223,5 μ (4,542)
			= 276,5 μ (4,225)
	HCl		= 275 μ (4,303)
	n/10 NaOH		= 270 μ (4,140)

25) Kondensation von 4-Amino-2-dimethylamino-6-hydroxy-
pyrimidin mit D-Glucose

3,1 g 4-Amino-2-dimethylamino-6-hydroxy-pyrimidin (69)
und 3,6 g D-Glucose werden mit 1 ccm Eisessig in 20 ccm

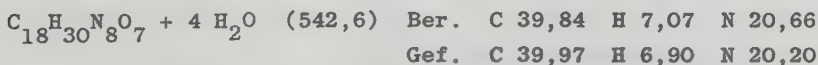
Wasser erhitzt. Nach einer Stunde wird filtriert, eingengt und der Niederschlag umkristallisiert. Z.P. 226 - 227°. R_f -Wert = 0,65 (System C). Daneben entsteht in geringer, nicht isolierbarer Menge ein nicht nitrosierbares Produkt (R_f = 0,81). Die Analysen sind auf das N-Acetal berechnet:



Wenn keine Essigsäure als Katalysator zugesetzt wird, erhält man nach 2,5 Stunden Kochzeit das Ausgangsmaterial wieder zurück.

26) Kondensation von 4-Amino-2-dimethylamino-6-hydroxypyrimidin mit D-Galaktose

4,7 g 4-Amino-2-dimethylamino-6-hydroxypyrimidin (30 mMol) und 6 g Galaktose (30 mMol) werden in 40 ccm Alkohol und 14 ccm Wasser auspendiert. Nach Zugabe einer Spur Ammoniumchlorid wurde unter Rückfluß gekocht. Nach vollständiger Lösung des Pyrimidins fällt ein Niederschlag aus, der nach 2 Stunden abgetrennt und getrocknet wird. Ausbeute: 10 g (96 %). Nach Umkristallisation aus 17 ccm Alkohol/Wasser (1/1) liegt der Z.P. bei 223°. Die Analyse ist auf ein Galaktose-N-acetal berechnet:



27) Kondensation von 2-Amino-4-dimethylamino-6-hydroxypyrimidin mit D-Galaktose

Äquimolekulare Mengen des Pyrimidins und Galaktose wurden in Alkohol/Wasser-Lösung mit einer Spur Ammoniumchlorid 3 Stunden unter Rückfluß gekocht. Nach Abkühlen konnte das

Ausgangspyrimidin quantitativ wiedergewonnen werden. Es tritt keine merkbare Reaktion ein.

28) Kondensation von D-Glucose mit weiteren Pyrimidinen

a) 4-Amino-6-hydroxy-2-methylmerkpto-pyrimidin:

5 g 4-Amino-6-hydroxy-2-methylmerkpto-pyrimidin (70) wurden mit 7 g D-Glucose in 50 ccm Wasser und 1 ccm Eisessig erhitzt. Es zeigt sich im Papierchromatogramm (System C) bei 0,67 - 0,68 ein zusätzlicher, nicht nitrosierbarer Fleck. Die Isolierung der Substanz gelang nicht. Auch bei einem Ansatz ohne Essigsäure tritt diese Verbindung in geringer Menge auf. Man kann kein nitrosierbares Reaktionsprodukt im Papierchromatogramm erkennen.

b) 4-Amino-uracil:

7 g 4-Amino-uracil (44) werden mit 10 g Glucose in 300 ccm Wasser und 100 ccm Alkohol 7 Stunden erhitzt. Es zeigt sich im Papierchromatogramm (System C) neben 4-Amino-uracil ($R_f = 0,59$) ein zweiter Fleck mit höherem R_f -Wert ($R_f = 0,77$), der nicht nitrosierbar ist. Für eine Isolierung ist die entstandene Menge zu gering. Bei Verwendung von Essigsäure als Katalysator verläuft die Kondensation zum C-Alkylierungsprodukt besser.

c) 2,4,6-Triamino-pyrimidin:

9 g Glucose werden mit 6 g 2,4,6-Triamino-pyrimidin (44) 20 Stunden in 150 ccm Alkohol und 20 ccm Wasser gekocht. Man sieht im Papierchromatogramm keinen absorbierenden Fleck außer dem des Ausgangsmaterials ($R_f = 0,28$ in System A). Wenn man 2%ige Essigsäure verwendet und 8 Stunden kocht, erscheinen weitere schwache Flecken, die nitrosierbar sind. Diese Verbindungen können nicht isoliert werden.

d) 2,4-Diamino-6-methoxy-pyrimidin:

1 g 2,4-Diamino-6-methoxy-pyrimidin und 1,3 g Glucose werden in 20 ccm Alkohol 8 Stunden unter Rückfluß gekocht. Im Papierchromatogramm ist nur das Ausgangsmaterial erkennbar. Verwendet man als Lösungsmittel 20 ccm Wasser und 0,2 ccm Eisessig, so bilden sich bei 13-stündigem Kochen geringe Spuren einer anderen nitrosierbaren Verbindung ($R_f = 0,75$ im System C), die nicht isolierbar ist.

e) 2,4-Diamino-6-hydroxy-pyrimidin-azomethincarbonsäure-5-äthylester:

2 g des Pyrimidins (71) wurden mit 4 g Glucose 2 Stunden in 100 ccm Alkohol gekocht. Man kann auf den Papierchromatogrammen keinen absorbierenden Fleck außer dem des Ausgangsmaterials erkennen.

29) Kondensationen von D-Ribose mit Pyrimidinen:

a) Uracil:

Wenn man Uracil zehn Stunden in 10%iger Essigsäure mit Ribose erhitzt, erfolgt keine Kondensation. Auch bei Verwendung von 30%iger Essigsäure ist keine Reaktion feststellbar, ebensowenig, wenn man Glucose einsetzt.

b) Isocytosin:

220 mg Isocytosin und 300 mg Ribose werden in 2 ccm 50%iger Essigsäure 2 Stunden auf dem Wasserbad erhitzt. Die Lösung färbt sich dabei rot. Im Papierchromatogramm (System C) sieht man außer dem Fleck des Ausgangsmaterials bei $R_f = 0,69$ noch einen zweiten absorbierenden Fleck bei $R_f = 0,78 - 0,81$. Für eine Isolierung ist die Menge zu gering.

c) Cytosin:

800 mg Cytosin und 1,2 g Ribose werden in 6 ccm Wasser und 0,3 ccm Eisessig 5 Stunden erhitzt. Im Papierchromatogramm zeigen sich 2 Flecken bei $R_f = 0,68$ (System C), der dem Cytosin zukommt, und bei $0,74 - 0,76$. Wenn man die Lösung mit 0,5 g Natriumnitrit und wenig 2 n HCl kurz erwärmt, entsteht eine Verbindung mit höherem R_f -Wert ($0,81 - 0,82$). Der zweite Fleck entspricht dem des Uracils ($0,65 - 0,69$). Die Substanz mit dem höheren R_f -Wert kann aus Papierchromatogrammen eluiert und das UV-Spektrum des Eluates gemessen werden. Maxima: 270 μ (Wasser) und 283 μ (NaOH).

30) 8-Benzyl-2-amino-4-oxo-6,7-dimethyl-dihydropteridin

3 g 5-Nitroso-2-amino-4-benzylamino-6-hydroxy-pyrimidin werden in 500 ccm 2 n Natronlauge (0,1 Mol) gelöst und in der Wärme mit 6 g Natriumdithionit versetzt. Es tritt Entfärbung ein. Man gibt langsam 6 ccm konz. Salzsäure (0,2 Mol) zu und erwärmt noch kurz unter Rühren. Es folgt Zugabe von 6 ccm Diacetyl, dann wird auf dem Wasserbad 30 Minuten erhitzt. Man versetzt mit wenig Aktivkohle und filtriert heiß ab. Mit 30%iger Natronlauge wird auf pH 3 gebracht; dabei fällt ein Niederschlag aus, der abfiltriert wird. Ausbeute: 1,5 g (43,5 %). Mehrmalige Umkristallisation aus Alkohol/Wasser liefert gelbgrüne Kristalle vom Z.P. über 300° .

$C_{15}H_{15}N_5O + 2 H_2O$ (317,34) Ber. C 56,76 H 6,03 N 22,06
Gef. C 56,40 H 5,45 N 22,27

UV-Spektren	in Wasser	λ_{max}	= 262 μ (4,058)
			= (284) μ (3,994)
			= 316 μ (3,086)
			= 402 μ (4,061)
	HCl		= 259 μ (4,018)
			= 285 μ (4,037)
			= 400 μ (4,061)

NaOH	$\lambda_{\max}$	= 225 μ	(4,336)
		= (270) μ	(3,917)
		= 300 μ	(4,155)
		= 307 μ	(4,164)
		= 370 μ	(3,851)

31) 5-Nitroso-2-amino-4-galaktamino-6-hydroxy-pyrimidin

7,1 g 4-Chlor-2-amino-6-hydroxy-pyrimidin (49 mMol) und 10 g kristallines Galaktamin (72) (55 mMol) werden im Bombenrohr 3 Stunden bei 120 - 130° erhitzt. Nach Abkühlung wird mit 100 ccm heißem Wasser das Produkt herausgespült. Wenig Niederschlag (Chlorpyrimidin) wird abgetrennt. Die Lösung wird nach Behandeln mit Aktivkohle mit 5 g Natriumnitrit versetzt und angesäuert. Aus der roten Lösung fällt im Eisschrank ein rotbrauner Niederschlag aus. Ausbeute etwa 10 g (70 %). Umkristallisieren aus Wasser liefert ein Produkt vom Z.P. 218 - 220°.

$C_{10}H_{17}N_5O_7 + 1,5 H_2O$ (346,36) Ber. C 34,68 H 5,82 N 19,84
Gef. C 34,13 H 5,72 N 20,22

UV-Spektren	in Wasser	$\lambda_{\max}$	= 209 μ	(4,318)
			= 319 μ	(4,225)
	n/10 NaOH		= 320 μ	(4,240)
	n/10 HCl		= 212 μ	(4,106)
			= 265 μ	(4,073)
			= 322 μ	(3,850)

32) 8-Galaktidyl-2-amino-4-oxo-6,7-dimethyl-dihydropteridin

1,4 g 5-Nitroso-2-amino-4-galaktamino-6-hydroxy-pyrimidin in 5 ccm 2 n Natronlauge werden mit 3 g Natriumdithionit versetzt und auf dem Wasserbad erhitzt, bis die rote Farbe verschwunden ist. Die Lösung wird mit 2 n Salzsäure auf pH 4

gebracht und mit 3 ccm Diacetyl versetzt. Auf dem Wasserbad wird 30 Minuten erwärmt. Man versetzt die Lösung mit wenig Aktivkohle und filtriert. Nach Zugabe von wenig Aceton fällt ein dunkler Niederschlag aus, der abgetrennt und verworfen wird. Bei weiterem Zusatz von Aceton fällt eine gelbgrüne Fraktion aus, die aus 80%igem Alkohol umkristallisiert wird.

$C_{14}H_{21}N_5O_6 + 2 H_2O$ (391,4) Ber. C 42,95 H 6,44 N 17,89
Gef. C 42,82 H 6,40 N 17,12

UV-Spektren	in Wasser	λ_{max}	=	231 m μ	(4,279)
			=	272 m μ	(3,978)
			=	320 m μ	(3,736)
			=	420 m μ	(3,230)
	HCl		=	(210) m μ	(4,049)
			=	259 m μ	(4,079)
			=	(280) m μ	(3,937)
			=	335 m μ	(3,326)
	n/10 NaOH		=	413 m μ	(3,954)
			=	240 m μ	(4,117)
			=	322 m μ	(3,736)

Literaturverzeichnis

- | | | |
|-----|---|--|
| 1. | H.Rembold | Dissertation, Stuttgart
(1957) |
| 2. | A.Butenandt u. H.Rembold | Hoppe Seyler's Z. physiol.
Chem. <u>311</u> , 79 (1958) |
| 3. | E.L.Patterson, H.P.Broquist,
Alberta M.Albrecht, M.H.von
Saltza u. E.L.R.Stokstad | J.Amer.chem.Soc. <u>77</u> , 3167
(1955) |
| 4. | E.L.Patterson, R.Milstrey
u. E.L.R.Stokstad | J.Amer.chem.Soc. <u>78</u> , 5868
(1956) |
| 5. | E.L.Patterson, M.H.von Saltza
u. E.L.R.Stokstad | J.Amer.chem.Soc. <u>78</u> , 5871
(1956) |
| 6. | H.S.Forrest u. H.K.Mitchell | J.Amer.chem.Soc. <u>77</u> , 4865
(1955) |
| 7. | M.Viscontini, M.Schoeller,
E.Loesser, P.Karrer u. E.
Hadorn | Helv.chim.Acta <u>38</u> , 397
(1955) |
| 8. | M.Viscontini, E.Loesser, P.
Karrer u. E.Hadorn | Helv.chim.Acta <u>38</u> , 1222
(1955) |
| 9. | M.Viscontini, E.Loesser, P.
Karrer u. E.Hadorn | Helv.chim.Acta <u>38</u> , 2034
(1955) |
| 10. | M.Viscontini u. H.Raschig | Helv.chim.Acta <u>41</u> , 108
(1958) |
| 11. | M.Viscontini, E.Loesser u.
P.Karrer | Helv.chim.Acta <u>41</u> , 440
(1958) |
| 12. | H.Rembold u. G.Hanser | Hoppe Seyler's Z. physiol.
Chem. <u>319</u> , 200, 206, 213
(1960) |

13. P.Karrer, R.Schwyzer, B. Erden u. A.Siegwart *Helv.chim.Acta* 30, 1031 (1947)
14. P.Karrer u. R.Schwyzer *Helv.chim.Acta* 31, 777 (1948)
15. P.Karrer u. R.Schwyzer *Helv.chim.Acta* 32, 423 (1949)
16. H.G.Petering u. D.I.Weisblat *J.Amer.chem.Soc.* 69, 2566 (1947)
17. H.G.Petering u. J.A.Schmitt *J.Amer.chem.Soc.* 71, 3977 (1949)
18. H.S.Forrest u. J.Walker *Nature* 161, 308 (1948)
19. H.S.Forrest u. J.Walker *J.chem.Soc. (London)* 1949, 79
20. H.S.Forrest u. J.Walker *J.chem.Soc. (London)* 1949, 2077
21. H.Ohle u. Marianne Hielscher *Chem.Ber.* 74, 13 (1941)
22. F.Weygand, A.Wacker u. V. Schmied-Kowarzik *Chem.Ber.* 82, 25 (1949)
23. G.Henseke u. H.-G.Patzwaldt *Chem.Ber.* 89, 2904 (1956)
24. E.L.Patterson, R.Milstrey u. E.L.R.Stokstad *J.Amer.chem.Soc.* 80, 2018 (1958)
25. R.Purrmann *Liebigs Ann.Chem.* 546, 98 (1941)
26. R.Purrmann *Liebigs Ann.Chem.* 548, 284 (1941)
27. W.Pfleiderer *Chem.Ber.* 90, 2588 (1957)
28. O.Isay *Ber.dtsch.chem.Ges.* 39, 257 (1906)

29. P.A. Levene J. biol. Chemistry 25, 617
(1916)
30. W. Traube Liebigs Ann. Chem. 432, 266
(1923)
31. H. Brederbeck, I. Hennig u.
W. Pfeleiderer Chem. Ber. 86, 321 (1953)
32. W. Pfeleiderer Chem. Ber. 88, 1625 (1955)
33. S. J. Thannhauser u.
G. Dorfmueller Chem. Ber. 47, 1304 (1914)
34. A. R. Todd, J. Baddiley u.
B. Lythgoe J. chem. Soc. (London) 1943,
571
35. W. Pfeleiderer u. M. Rukwied Chem. Ber. 94, 118 (1961)
36. J. R. Marshall J. chem. Soc. (London) 1951,
1004
37. A. R. Todd, J. Baddiley u.
B. Lythgoe J. chem. Soc. (London) 1944,
318
38. Die Praxis des organischen
Chemikers (Gattermann-Wieland) Auflage 36, S. 251 (1954)
39. F. Micheel u. A. Frowein Chem. Ber. 90, 1599 (1957)
40. H. S. Isbell u. H. L. Frush J. Org. Chem. 23, 1309 (1958)
41. L. F. Cavalieri, A. Bendich,
J. F. Tinker u. G. B. Brown J. Amer. chem. Soc. 70, 3875
(1948)
42. W. Pfeleiderer u. G. Strauß Liebigs Ann. Chem. 612, 173
(1958)
43. W. Pfeleiderer u. E. Liedek Liebigs Ann. Chem. 612, 163
(1958)
44. Diplomarbeit H. J. Schramm München 1960

45. J. Davoll J.chem.Soc. (London) 1960,
131
46. W.H.Evans, A.Robertson, J.chem.Soc. (London) 1957,
A.McGookin, L.Jurd u. 3510
W.R.N.Williamson
47. E.J.Hay u. L.J.Haynes J.chem.Soc. (London) 1958,
2231
48. F.F.Davies u. F.W.Allen J.biol.Chemistry 227, 907
(1957)
49. F.W.Allen u. C.Yu Biochim.Biophysica Acta 32,
393 (1959)
50. W.E.Cohn Biochim.Biophysica Acta 32,
569 (1959)
51. F.W.Allen, A.M. Crestfield Biochim.Biophysica Acta 32,
u. J.P.Scannel 406 (1959)
52. H.Biltz u. H.Wittek Chem.Ber. 54, 1035 (1921)
53. R.K.Robins u. G.H.Hitchings J.Amer.chem.Soc. 80, 3449
(1958)
54. R.Hull J.chem.Soc. (London) 1957,
4845
55. W.A.Skinner, M.C.Schelstraete J.Org.Chem. 25, 149 (1960)
u. B.R.Baker
56. J.H.Burkhalter, R.J.Seiwald J.Amer.chem.Soc. 82, 991
u. H.C.Scarborough (1960)
57. M.Ridi u. P.Papini Gazz.chim.ital. 76, 376
(1946)
58. H.Bredereck, E.Bäder u. Chem.Ber. 87, 784 (1954)
G.Höschle

59. T.Masuda Pharm.Bull.Japan 4, 71, 72
(1956)
60. T.Masuda Pharm.Bull.Japan 5, 375
(1957)
61. T.Masuda, T.Kishi, M.Asai
u. S.Kuwada Pharm.Bull.Japan 7, 361
(1959)
62. G.F.Maley u. G.W.E.Plaut J.biol.Chemistry 234, 641
(1959)
63. W.S.McNutt J.Amer.chem.Soc. 82, 217
(1960)
64. W.Pfleiderer u. G.Nübel Chem.Ber. 93, 1406 (1960)
65. W.E.Fidler u. H.C.S.Wood J.chem.Soc. (London) 1957,
4157
66. L.Zervas Chem.Ber. 64, 2289 (1931)
67. H.S.Forrest, R.Hull, H.J.
Rodda u. A.R.Todd J.chem.Soc. (London) 1951,
3
68. W.Traube Chem.Ber. 26, 2553 (1893)
69. B.Roth, J.H.Smith,Jr.,
u. M.E.Hultquist J.Amer.chem.Soc. 73, 2864
(1951)
70. B.R.Baker, J.P.Joseph
a. R.E.Schaub J.Org.Chem. 19, 631 (1954)
71. W.Pfleiderer Chem.Ber. 90, 2602 (1957)
72. F.Kagan, R.V.Heinzelmann
a. M.A.Rebenstorf J.Amer.chem.Soc. 79, 3541
(1957)

L e b e n s l a u f

Am 16. 2. 1932 wurde ich in Oettingen/Bayern als Sohn des Gendarmerie-Wachtmeisters Georg Schramm und seiner Frau Josefa (geb. Wagner) geboren. Nach vier Klassen Volksschule besuchte ich ab 1942 das Gymnasium in Kempten/Allgäu. Nachdem mein Vater im Mai 1945 gefallen war, übersiedelte die Familie nach Oettingen, wo ich die dortige sechsklassige Oberschule besuchte. In Nördlingen im Ries legte ich 1951 das Abitur ab. Im Wintersemester 1951/52 begann ich an der Universität München das Chemiestudium. Nach drei Semestern erhielt ich einen Arbeitsplatz. Im Jahre 1955 legte ich das Diplom-Vorexamen und 1957 das Diplom-Hauptexamen ab. Seit 1958 arbeite ich am Max-Planck-Institut für Biochemie (Direktor Prof. Dr. A. Butenandt) an der Diplom- bzw. Doktor-Arbeit.

